

2. Tierversuche: Geht es auch ohne?

2.1 Was heißt Ersatz von Tierversuchen?

Im Sprachgebrauch wird üblicherweise von "Alternativen" sowie von "Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch" oder "tierversuchsfreien Methoden" gesprochen.

Der Ersatz eines Tierversuchs durch eine tierversuchsfreie Methode schließt alle Verfahren und Techniken ein, die statt des Tierversuchs Anwendung finden. Es sind überwiegend Zell- und Gewebe- und Organkulturen, die auch in dem übergeordneten Begriff "**in-vitro-Verfahren**" (im Reagenzglas) zusammengefasst sind. Auch analytische Methoden sowie Computermodelle sind Ersatzmethoden.

Es muss dabei berücksichtigt werden, dass tierversuchsfreie Verfahren nicht immer tierverbrauchsfrei sein müssen. So werden beispielsweise Tierorgane (z.B. Euter, Darm) von geschlachteten Tieren oder bebrütete Eier verwendet oder es werden Tiere getötet, um von ihren Geweben Zellkulturen anzulegen. Versuche mit Verbrauch von Tieren stellen keinen wirklichen Ersatz dar, deshalb sollte es weiterhin Ziel sein, Ersatzmethoden zu entwickeln, die tierverbrauchsfrei sind.

Die folgenden Beispiele sollen die Situation verdeutlichen:

Abwässer wurden bisher im Tierversuch durch einen Fischtest überprüft. (siehe Kapitel Beispiele für Tierversuche beim Erkennen von Umweltgefährdungen). Mittlerweile kann dieser Test nicht mehr an lebenden Fischen, sondern z.B. an bis zu zwei Tage alten, schmerzempfindlichen Fischembryonen des Zebraärlings durchgeführt werden.

Diese Methode muss noch den Weg der Einführung und Berücksichtigung bei der nationalen Gesetzgebung und der internationalen Normung durchlaufen. Dieses Verfahren gilt als tierversuchsfrei, aber nicht tierverbrauchsfrei.

Ein Beispiel für ein Testverfahren, das ohne Tierverbrauch auskommt, finden wir bei der Überprüfung von Stoffen auf hautreizende Eigenschaften. Im Tierexperiment wird die Substanz auf die Haut von Kaninchen aufgetragen. Wirkt die Prüfsubstanz hautreizend, entstehen sehr schmerzhaft Entzündungen. In der Ersatzmethode zum Tierversuch wird die Substanz an isolierter menschlicher Haut oder an künstlicher Haut getestet. Solche künstlichen Testsysteme sind bereits im Handel erhältlich.

2.2 Was ist das 3-R Konzept?

Die Wissenschaftler Russel und Burch haben 1959 eine wissenschaftliche Studie über Tierversuche erstellt. Die Autoren teilten die Methoden, die sie als Alternativen zu Tierversuchen bezeichneten, in drei Gruppen ein:

1. **Replacement** = Ersatz von Tierversuchen
2. **Reduction** = Verringerung
3. **Refinement** = Verfeinerung

Die Klassifizierung von Russel und Burch ist weltweit als das »3-R Konzept« bekannt.

R Nummer 1 = Replacement (Ersatz)

Als Ersatzmethode (Replacement) bezeichneten sie alle Verfahren, die an nicht fühlender Materie durchgeführt wurden und damit den Versuch an schmerz- und leidensfähigen Tieren ersetzen

Beispiele:

Schwangerschaftstest

Ersatzmethode: Das Schwangerschaftshormon wird im Urin durch eine Reaktion (Antigen-Antikörperreaktion) im Reagenzglas nachgewiesen. Diese in-vitro-Methode ersetzt seit circa 20 Jahren folgenden

Tierversuch: Mäusen, Fröschen oder Kröten wurde menschlicher Urin injiziert. Nach einigen Tagen werden die Tiere getötet, um ihre Geschlechtsorgane zu untersuchen. Veränderungen der Geschlechtsorgane gelten als Nachweis des Schwangerschaftshormons.

Pyrogentest (Test auf fiebererzeugende Substanzen)

Ersatzmethode: Die Prüfsubstanz wird mit einem Tropfen menschlichen Blutes im Reagenzgefäß vermischt. Ist die Prüfsubstanz fiebererzeugend, entlassen die Zellen des Immunsystems Botenstoffe, die Fieber auslösen. Der Nachweis dieser fieberauslösenden Stoffe wird mit einer Antigen-Antikörperreaktion durchgeführt. Sind fiebererzeugende Stoffe nachweisbar, so tritt eine Verfärbung ein. Dieser Test ist bereits im Handel.

Tierversuch: Die Prüfsubstanz wird Kaninchen verabreicht (meistens gespritzt). Die Kaninchen werden in engen Boxen über mehrere Stunden fixiert. Ihre Körpertemperatur wird über Stunden protokolliert. In der Regel finden an diesen Tieren zu einem späteren Zeitpunkt weitere Tests statt. Am Ende steht der Tod.

R Nummer 2 = Reduction (Verringerung)

Zur zweiten Gruppe zählten sie Tierversuche, die mit einer geringeren Zahl an Tieren als üblich auskamen (Reduction). Die Auswahl der vermeintlich richtigen Tierart und die Anwendung statistischer Methoden, waren die Mittel, um die Tierzahlen zu reduzieren. Heute werden auch gentechnisch veränderte Tiere hinzugerechnet.

Die exakte Planung des Versuchs mit Hilfe statistischer Methoden, die Auswahl der "richtigen" Tierart, die Verwendung gentechnisch veränderter Tiere und neue Test-Methoden sollen die Versuchstierzahlen reduzieren.

Beispiel:

Toxizitätstest (Prüfung der Giftigkeit)

Der „Toxizitätstest“ (Toxizität = Giftigkeit) dient dazu, den Grad der Giftigkeit eines neuen Stoffes zu bestimmen, um diesen in Giftklassen einzuteilen. Alle Stoffe, die in irgendeiner Form mit dem Menschen und/oder der Umwelt in Berührung kommen, werden auf ihre Giftigkeit getestet. Es werden Stoffe wie z.B. Reinigungsmittel, Arzneimittel, Pflanzenschutzmittel, Chemikalien getestet. Dieser Test ist einer der häufigsten Versuche im Bereich Vorbeugen, Erkennen und Behandeln von Krankheiten und bei Prüfung von Stoffen und Produkten.

Bisheriger Tierversuch:

LD 50 Test

LD steht für Letale Dosis, übersetzt bedeutet das *tödliche Menge* eines Stoffes. 50 steht für 50 %, weil die Prüfsubstanz so hoch dosiert wird, dass 50 Prozent der Tiere sterben. Wenn also 50 % der Tiere bei einer Dosis sterben, ist der so genannte LD 50 Wert erreicht.

Für den Test werden hauptsächlich Ratten und Mäuse verwendet. Die zu testenden Stoffe werden durch den Mund (oral) z.B. über eine Magensonde verabreicht. Bei dem

Test werden gleichzeitig 4-5 Dosierungen einer Substanz in Gruppen zu je 10 Tieren verabreicht. Die Dosierungen sind so gewählt, dass in der einen Testgruppe keines der Tiere, in einer anderen Gruppe alle Tiere und in den weiteren Gruppen jeweils einige der Versuchstiere sterben. Dieser Tierversuch wird so lange durchgeführt bis eine Dosis erreicht wird, bei der die Hälfte (50 %) der Versuchstiere stirbt. Bei jedem Test leiden und sterben über 40 Tiere.

Noch einmal: Dieses ist ein Test zur Feststellung der Giftigkeit eines Produktes. Ein Lebewesen zu vergiften hat die für Vergiftungen typischen Folgen: Krämpfe, Lähmungen, Atemnot, Blutungen aus Nase und Mund bis zum Tod. Dieses ist ein besonders grausamer Tierversuch und dazu äußerst unzuverlässig in seiner Aussage. Die Giftigkeit einer Substanz hängt von vielen Faktoren ab, z.B. der speziellen Empfindlichkeit des einzelnen Tieres und seiner Konstitution zum Zeitpunkt des Versuches. Für den Verbraucherschutz sind solche Ergebnisse letztlich völlig unbrauchbar.

Methoden zur Verringerung der Tierversuche:

ATC Methode (Acute Toxic Class Method)

Die Giftklasse wird in einem schrittweisen Verfahren ermittelt. Für jeden Schritt werden 3 Tiere verwendet. 3 Tiere erhalten z.B. 200 mg einer Substanz. Sterben 2-3 Tiere, erhalten die nächsten 3 Tiere eine geringere Menge z.B. 25 mg. Sterben auch hier 2-3 Tiere, wird der Versuch mit erneuten 3 Tieren wiederholt. Beim Tod von 2-3 Tieren ist die Klassifizierung mit "sehr giftig" anzugeben. Stirbt in den letzten Stufen nur jeweils ein Tier, genügt die Klasse "mäßig giftig".

Ist von den ersten 3 Tieren (Prüfsubstanz = 200 mg) 1 oder kein Tier gestorben, wird der Test mit 3 neuen Tieren wiederholt. Stirbt auch hier höchstens 1 Tier, erhalten 3 weitere Tiere z.B. 2000 mg. Sterben 1-3 Tiere, ist die Klassifizierungsstufe "gering giftig". Stirbt keines der Tiere, wird der Test mit 2000 mg wiederholt und die Toxizitätsklasse "gering" bis "ungiftig" ermittelt- je nach dem, ob hierbei keines oder 1-3 Tiere sterben.

Im Vergleich zum LD 50 Test werden bis zu 90% weniger Tiere verbraucht. Durch Vorabinformationen und mathematisch-statistische Errechnungen über die Testsubstanz steht im günstigsten Fall schon nach der ersten Stufe die Klassifizierung fest. Der Verbrauch liegt bei durchschnittlich 6-12 Tieren.

"Up-and-Down" Methode

Auch hier wird die Giftklasse schrittweise ermittelt. Nur ein Tier erhält die zu prüfende Substanz. Stirbt es, erhält das nächste Tier weniger, überlebt es, erhält das nächste Tier mehr von der Testsubstanz. Die Prozedur wird solange fortgesetzt, bis ein Tier stirbt, jedoch mit der vorherigen Dosis überlebt hat (Umkehrung). Zur Bestätigung des Testergebnisses werden nochmals 4 weitere Tiere eingesetzt mit der vorherigen Substanzdosis. Die Anzahl der verbrauchten Tiere für diesen Versuch beträgt 6-10 Tiere.

"Fixed Dose" Verfahren

Je 10 Tieren pro Dosierung wird die Testsubstanz in den Magen gepumpt, allerdings nur bis zu einer festgelegten Höchstdosis von 2000 mg/kg Körpergewicht. Treten schon bei niedrigeren Dosierungen Vergiftungserscheinungen auf, wird nicht höher dosiert, sondern der Test abgebrochen. Auf diese Weise werden den Tieren die qualvollen Vergiftungen von hohen Dosen erspart. Es werden 10 bis 40 Tiere eingesetzt.

Was ist die Zweitanmelderregelung?

Die so genannte "Zweitanmelderregelung" dient zur Verhinderung von Mehrfachversuchen und trägt damit erheblich zur Verringerung der Tierversuchszahlen und der Anzahl der Versuche bei. Im Bereich der Prüfung von Pflanzenschutzmitteln und Chemikalien muss sich der Anmelder eines Stoffes vor der Durchführung der Tierversuche darüber informieren, ob der zu prüfende Stoff nicht schon bereits angemeldet ist. Ist das der Fall, so hat er das Recht, die zuständige Behörde auf die Prüfergebnisse des Erstanmelders zu verweisen.

Die Mitgliedstaaten der EU sind berechtigt, Erst- und Zweitanmelder durch rechtliche Bestimmungen zu verpflichten, die Informationen auszutauschen. Deutschland hat 1994 die Voranfragepflicht für die Zulassung von Chemikalien eingeführt. Eine Zweitanmelderregelung für Pflanzenschutzmittel wurde in der EU 1991 eingeführt. Diese Regelung wurde 1998 in deutsches Recht umgewandelt. Die Biologische Bundesanstalt als zuständige Prüfinstanz ist berechtigt, auf die Daten des Erstanmelders zurückzugreifen, ohne dass dessen Einverständnis vorliegt.

R Nummer 3 = Refinement (Verfeinerung)

Zur dritten Gruppe der Verfeinerung (Refinement) zählten Russel und Burch Tierversuche, die auf Grund einer besseren Technik den Tieren weniger Schmerzen und Leiden zufügten. Heute werden auch verbesserte Haltungsbedingungen als Refinement-Methode betrachtet.

Beispiele:

Bei der Feststellung der Giftigkeit einer Chemikalie ist es seit 1991 möglich, stark leidende Tiere vorzeitig zu töten. Bis dahin durften die Leiden der Tiere im klassischen LD 50 Test nicht abgekürzt werden.

Die Anwendung von Schmerzmitteln, Schmerzausschaltung, mikro-chirurgische Verfahren oder auch so genannte Finalversuche (der Versuch wird am narkotisierten Tier durchgeführt, am Ende des Versuchs wird das Tier in Narkose getötet) gelten ebenfalls als verfeinerte Versuchstechniken. Auch verbesserte Haltungsbedingungen der Tiere (z.B. Gruppenhaltung bei Meerschweinchen, strukturierte Käfige für Nagetiere) zählen dazu.

3-R Konzept in der Kritik

Es liegt nahe, dass Ersatzmethoden ohne Tierversuch (Replacement) die Zielsetzung sein sollte, um Tierversuche abzuschaffen. Verringerung (Reduction) von Tierversuchszahlen ist ein Schritt in die richtige Richtung. Die Veränderung von Tierversuchen jedoch als Alternative zu klassifizieren, widerspricht nicht nur den Grundsätzen der Ethik, sondern bremst auch die Entwicklung tierversuchsfreier Verfahren, weil Wissenschaftler das Forschungsinteresse weiterhin an der vertrauten Methode Tierversuch ausrichten. Die Forschung sollte sich auf die Entwicklung tierversuchsfreier Methoden konzentrieren.

2.3 Mehr über Ersatzmethoden (Beispiele)

Welche Ersatzmethoden gibt es:

- Zell- und Gewebekulturen
- Isolierte Organe/Organschnitte
- Niedere Organismen/Bakterienkulturen
- Computermodelle
- Analytische Methoden
- Audio-visuelle Medien
- Datenbanken

Im Bereich Vorbeugen, Erkennen oder Behandeln von Krankheiten sowie im Bereich Prüfung von Stoffen und Produkten gibt es den höchsten Verbrauch von Versuchstieren. Durch die hohe Leistungsfähigkeit von **Zell- und Gewebekulturen** und der Computer- technik können wir jedoch auf einen erheblichen Rückgang in den letzten 15 Jahren zurückblicken. Jedenfalls gehören die Zell- und Gewebekulturen zu den wichtigsten Grundlagen für Ersatzmethoden. Und das Potential der Zellkulturen ist noch längst nicht ausgeschöpft. Experten sagen, dass sich die Forschung hier noch im Anfangsstadium befindet. Deswegen wollen wir auf diesen Bereich der Ersatzmethoden etwas mehr eingehen.

Was ist eine Zelle?

Die Zelle ist die kleinste lebensfähige, über einen eigenen Energie- und Stoffwechsel verfügende Grundeinheit aller Lebewesen. Bei Lebewesen schließen sich Zellen zu Geweben (z.B. Fettgewebe) und Organen (z.B. Auge) zusammen.

Was ist eine Zellkultur?

Eine Zellkultur enthält Zellen in einer Nährlösung, die ihr Überleben, also ihre Ernährung sichern soll (siehe auch folgende Absätze).

Was ist eine Zell-Linie?

Die Herstellung und Weiterentwicklung (Züchtung) einer Zellkultur für den Gebrauch zu Testzwecken nennt man Zell-Linie.

Ersatzmethoden mit Zell- und Gewebekulturen

Man unterscheidet *primäre* und *permanente* Zellkulturen. **Primäre Zellen** werden direkt aus dem Organismus gewonnen. Für die Gewinnung von Tierzellen werden die Tiere meist getötet. Um Kulturen menschlicher Zellen, z.B. von Leber, Haut, Knorpel oder Knochenmark, anzulegen, kann "Abfallmaterial", das bei Operationen anfällt, verwendet werden. Auch die Blutgefäßinnenwand von Nabelschnüren eignet sich zur Kultivierung. Die Zellen behalten außerhalb ihres Organismus ihre natürliche Funktion bei, allerdings auch ihren natürlichen Teilungszyklus, d.h. sie sterben nach einer gewissen Zeit ab. Ihre Kultivierung ist also nur zeitlich begrenzt möglich.

Permanente Zellkulturen können sich unaufhörlich teilen und wachsen. Sie sind praktisch unbegrenzt lebensfähig. Allerdings geht diese Fähigkeit mit dem Verlust ihrer natürlichen Funktion einher. Eine der bekanntesten permanenten Zelllinien ist HeLa. Diese Kultur des Gebärmutterhalskrebses einer amerikanischen Patientin stammt aus dem Jahr 1952.

Mittlerweile gibt es zahllose Zelllinien für die verschiedensten Fragestellungen. In Zellkulturbanken, wie der "Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen" oder der "American Type Culture Collection" werden Zigtausende verschiedener primärer und permanenter Linien aufbewahrt und können von Forschern bestellt werden.

Zellen leben im Organismus nicht isoliert, sondern im Verband und Austausch mit Zellen derselben oder anderer Funktion. Mit so genannten **Co-Kulturen** oder **organtypischen Kulturmodellen** lassen sich selbst komplexe Strukturen des menschlichen Körpers im

Reagenzglas "nachbauen". Diese Kultivierungsansätze sind noch relativ neu, haben aber in den letzten Jahren einen enormen Aufschwung erfahren. So ist es gelungen die menschliche Haut mit ihren diversen Schichten verschiedener Zellen darzustellen. Sogar dreidimensionale Herz-, Leber- und Knorpelgewebe oder Blutgefäße können heute dank modernster Techniken im Labor nachgebildet werden. Beispielsweise wachsen die verschiedenen Zelltypen der Leber in einem Geflecht aus winzigen Hohlfasern und können so untereinander in natürlicher Weise kommunizieren. Die Hohlfasern werden mit Nährmedium durchströmt und dienen der

Ernährung der Zellen. Mehrere Hohlfasersysteme können mit unterschiedlichen Zelllinien beschickt und mit Silikonschläuchen sogar zu einem dem Körper ähnlichen Kreislauf verbunden werden.

Zur **Kultivierung und Ernährung von Zellen**, Organen oder Geweben sind spezielle Kulturmedien nötig. Oftmals beinhalten diese so genanntes fötales Kälberserum (FKS). In den USA, Neuseeland und Australien ist es üblich, riesige Rinderherden geschlossen zum Schlachten zu bringen. Auch Kühe in verschiedenen Stadien der Trächtigkeit sind darunter. Ihre Gebärmutter wird mitsamt dem Fötus herausgeschnitten. Dem ungeborenen Kalb wird dann eine dicke Nadel ins das Herz gestoßen, um das Blut abzusaugen. Dieser schmerzhafteste Vorgang geschieht ohne Betäubung. Das Blut wird zu Kulturmedien verarbeitet. In manchen Ländern, wie Polen und Ungarn, werden ungeborene Kälber extra für die Produktion von fötalem Kälberserum gezüchtet. Der weltweite Jahresbedarf liegt bei etwa 500 000 Litern - dafür müssen mehr als 1 000 000 ungeborene Kälber sterben. Auch andere Tierteile, wie Kollagen aus Rattenschwänzen, werden für manche Kulturen benötigt.

Mittlerweile gibt es synthetisch hergestellte Kulturmedien, die ohne Bestandteile vom Tier auskommen!

Beispiele für Versuche mit Ersatzmethoden

2.3.1 Vorbeugen, Erkennen oder Behandeln von Krankheiten

1. Antikörper-Test: Bestimmte weiße Blutkörperchen eines gesunden Organismus bilden körpereigene Abwehrstoffe (Antikörper), gegen eindringende Fremdstoffe (Antigene) wie beispielsweise Krankheitserreger. In der Immunologie werden Antikörper (körpereigene Abwehrstoffe) in großem Umfang im Bereich der Krebsforschung, der Infektionsbekämpfung oder für Untersuchungen zur Transplantat-Abstoßung verwendet. Zur Produktion der Antikörper wurden Mäuse verwendet. Hierzu erhielten die Tiere Substanzen in die Bauchhöhle gespritzt, die Entzündungen hervorriefen. Desweiteren wurden Krebszellen injiziert. Sie vermehrten sich und provozierten die gewünschte Antikörper-Produktion. Die Tiere entwickelten eine Bauchwassersucht. Die Antikörper befanden sich in der Flüssigkeit, welche in regelmäßigen Abständen abgesaugt wurde. Inzwischen werden die Antikörper von Zellkulturen mit Hilfe der Technik in zwei Bioreaktoren produziert («miniPerm» und «Tecnomouse»). Die Verfahren sind validiert. Die Produktion von Antikörper in Mäusen darf heute nur noch in streng geregelten Ausnahmefällen stattfinden.

2. Toxizitätstest mit Säuger-Zellkulturen: Mit Hilfe von menschlichen oder anderen Säuger-Zellkulturen lässt sich die Giftigkeit von Pharmaka, kosmetischen und anderen chemischen Produkten untersuchen. Die Zellen reagieren sehr empfindlich und sterben bei Zugabe von giftigen Stoffen ab. Die Substanzmenge, bei der die

Hälfte der Zellen stirbt, wird als IC50 = mittlere inhibitorische (hemmende) Konzentration angegeben. Auf diese Weise lassen sich verlässliche Daten für die Verbrauchersicherheit an schmerzfreier Materie gewinnen.

3. Mikrobiologische Diagnostik bei Tollwut: Im 'Mäuseinokulationstest' wird Mäusen das zu untersuchende Material in das Gehirn injiziert, sie sterben unter schrecklichen Qualen. Der Tollwutnachweis mit einer Mäusezell-Linie und mit einem so genannten "Immunfluoreszenztest" hat sich heute als Methode der Wahl etabliert.

4. Papageienkrankheit: Für den Nachweis des Erregers der Psittakose (Papageienkrankheit) war der Mäuseversuch gesetzlich vorgeschrieben. Die Kot- oder Organprobe wurde Mäusen in den Bauchraum gespritzt. Nach einer Woche wurden sie getötet, um Teile von Leber und Milz in weitere Mäuse zu injizieren. Auch diese Mäuse wurden getötet und Teile von deren Leber und Milz in andere Mäuse gespritzt. Danach konnten typische Veränderungen von Leber und Milz unter dem Mikroskop beobachtet werden. Heute stehen mehrere tierversuchsfreie Nachweisverfahren, wie permanente Zellkulturen, "ELISA" oder "PCR" zur Verfügung.

5. Herstellung immunologischer Arzneimittel: Zahlreiche Impfstoffe gegen Krankheiten wie Tollwut, Kinderlähmung, Staupe oder Schweinepest wurden früher generell im Tier hergestellt. Heute ist die Produktion von Impfstoffen größtenteils auf Zellkulturen, teils permanente, teils primäre, umgestellt. Für einige Impfstoffe werden auch bebrütete Hühnereier eingesetzt.

6. SHE-Mikrokerntest: In internationalen Vorschriften wird zur Prüfung von Medikamenten und Chemikalien auf ihre erbsubstanzschädigende Wirkung der so genannte Mikrokerntest verlangt. Dabei wird Tieren die zu prüfende Substanz in hohen Dosen verabreicht, was oft furchtbare Qualen zur Folge hat. Nach einer Wartezeit werden die Tiere getötet. Das Knochenmark ihrer Oberschenkelknochen wird auf Zellen mit veränderten Zellkernen, den so genannten Mikrokernen, untersucht. In einem an der Universität Würzburg entwickelten Verfahren, dem SHE-Mikrokerntest, können solche Zellkernveränderungen auch in einer Zellkultur mit "SHE-Zellen" beobachtet werden. In der Akademie für Tierschutz wurden bisher 75 Substanzen mit diesem neuen Verfahren geprüft und mit veröffentlichten Daten aus Tierversuchen verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass der SHE-Mikrokerntest genauso gut geeignet ist, schädigende Wirkungen zu erkennen, wie der Tierversuch.

7. Versuche mit isolierten Organen: Für die Entnahme von Organen werden die Tiere getötet. Die Organe werden außerhalb des Organismus mit bestimmten Lösungen durchströmt und erhalten so ihre Funktion noch über einen gewissen Zeitraum bei. Diese Eigenschaft ermöglicht, die **Wirkung von Arzneimitteln darzustellen**.

8. Computermodelle

a. Mit Hilfe von Computermodellen lassen sich Körperfunktionen als Ganzes mit all ihren Regulationsmechanismen erfassen. Insbesondere die Pharmakokinetik (Lehre von der Verteilung, Verstoffwechslung und Ausscheidung von Arzneimitteln im Organismus) folgt generellen Prinzipien strenger naturwissenschaftlicher Gesetze. Seit Anfang der Achtziger Jahre werden "Computergestützte Methoden zur Wirkstoffentwicklung" (*Computer-Assisted Drug Development, CADD*) in der pharmazeutischen Industrie im so genannten Screening (Auswahlverfahren) eingesetzt. Treibende Kraft ist dabei weniger der Tierschutzgedanke, als die zeitsparende Identifizierung neuer pharmakologischer Substanzen. Trotzdem ersparen diese Systeme unzähligen Tieren einen qualvollen Tod im Labor. Beim Screening mit Computermodellen können potentiell unwirksame oder giftige Stoffe schon auf einer frühen Stufe der Entwicklung ausgesondert werden. Solche Pharmaka kommen so erst gar nicht in den Tierversuch.

b. Computertomographien und andere moderne bildgebende Verfahren ermöglichen detaillierte Einblicke in den menschlichen Körper. So lässt sich Forschung am Menschen für den Menschen betreiben, ohne den Umweg über das Tier gehen zu müssen.

9. Analytische Methoden

Früher wurden zur Diagnose von Infektionskrankheiten und für die quantitative und qualitative Analyse von körpereigenen Substanzen, wie zum Beispiel Insulin oder anderen Hormonen, zahllose Tierversuche durchgeführt. In den Sechziger und Siebziger Jahren entwickelte man Analyseverfahren, die sehr viel präziser waren und zudem - als Nebeneffekt - auf Tierversuche verzichteten.

- HPLC-Methode

Bei der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) werden die zu untersuchenden Substanzgemische in eine mit Kieselgelkügelchen bestückte Stahlsäule gespritzt. Je nach den unterschiedlichen chemischen Eigenschaften der Substanzen haften diese mehr oder weniger stark an den Kügelchen und werden zu unterschiedlichen Zeitpunkten aus der Säule herausgespült. Mit empfindlichen Detektoren wird gemessen, wann und in welcher Menge eine Substanz die Säule verlässt.

- PCR-Verfahren

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) ist eine Vervielfältigungstechnik für DNA-Stücke (einzelnes Stück des Stranges einer Erbsubstanz). Liegt ein DNA-Stück in einer geringen, nicht nachweisbaren Menge vor, kann es mit der PCR beliebig vermehrt werden, damit es analysierbar wird. Mit dieser Technik lassen sich Zellen, wie z.B. krankmachende Bakterien, in winzigen Mengen nachweisen.

2.3.2 Erkennen von Umweltgefährdungen

1. Hydra Test: Der 1 cm große Süßwasserpolytyp Hydra ist ein einfaches wirbelloses Hohltier. Es ist zu einer ungeheuren Regeneration befähigt. Wird eine Hydra in ihre einzelnen Zellen zerlegt, kann innerhalb von 6 Tagen aus jeder einzelnen Zelle eine neue Hydra erwachsen. Giftige Substanzen hemmen diese Neubildungsfähigkeit. Dieser Test eignet sich vor allem für umwelttoxikologische Untersuchungen, z.B. von Abwässern.

2. Fischei-Test

Abwässer wurden bisher im Tierversuch durch einen Fischttest. Mittlerweile wird dieser Test nicht mehr an lebenden Fischen, sondern z.B. an bis zu zwei Tage alten, Fischembryonen des Zebrafisches durchgeführt. Diese haben noch kein vollständig ausgebildetes Nervensystem, weswegen ihnen eine Schmerzempfindung abgesprochen wird. Diese Methode ist auf dem Wege der Einführung und Berücksichtigung bei der nationalen Gesetzgebung und der internationalen Normung. Dieses Verfahren gilt als tierversuchsfrei, aber nicht tierverbrauchsfrei.

3. Leuchtbakterientest: Die Fähigkeit bestimmter Bakterien zu leuchten, lässt Rückschlüsse auf ihren Stoffwechselzustand zu. Bei Zugabe von reizenden oder ätzenden Substanzen wird der Stoffwechsel geschädigt und die Leuchtkraft somit vermindert. Die Menge der Lichtemission der Bakterien ist also ein Maß für die Reizwirkung eines Teststoffes. Diese Methode wird bereits im Bereich der Überprüfung der Aquatoxizität (Wassergiftigkeit) eingesetzt.

2.3.3 Prüfung von Stoffen und Produkten

1. Toxizitätstest: Erbgutveränderungen lassen sich in permanenten Zellkulturen von Säugetieren, z.B. mit Mäusetumorzellen oder Eierstockzellen des Chinesischen Hamsters, überprüfen.

2. siehe auch den bei Behandeln von Krankheiten beschriebenen **Toxizitätstest mit Säuger-Zellkulturen.**

3. Neutralrot-Aufnahme-Test (NRU-Test): Lebende, voll funktionstüchtige Zellen einer permanenten Mäuseembryo-Zelllinie sind in der Lage den Farbstoff Neutralrot aufzunehmen. Werden sie durch Zugabe von irritierenden Stoffen geschädigt, kann der Farbstoff nicht in die Zelle eindringen. Die Anzahl der angefärbten Zellen gilt als Maß für die reizenden Eigenschaften einer Testsubstanz.

4. Embryo-Stammzell-Test: Dieser Testansatz mit permanenten Mäuse-Zelllinien basiert auf der Tatsache, dass embryonale Stammzellen (Zellen in einer sehr frühen Stufe der Entwicklung) sich unter bestimmten Kultur-Bedingungen in verschiedene Zelltypen, z.B. Herzmuskelzellen, entwickeln. Embryoschädigende und missbildende Substanzen hemmen diese Entwicklung. Nach einer 10-tägigen Kultivierungszeit mit der Testsubstanz wird untersucht, ob sich Herzmuskelzellen gebildet haben. Bei Validierungsstudien erwies sich der Test als 100% korrekt bei sehr giftigen Stoffen.

5. Limb Bud Micromass-Test: In einer noch undifferenzierten, frühen Entwicklungsstufe des Embryos werden einzelne Zellen aus den Bereichen, die später einmal zu den Gliedmaßen werden, entnommen. Werden diese Zellen in-vitro kultiviert, formen sie einen Zellhaufen aus Knorpelzellen. Gibt man giftige Chemikalien hinzu, wird diese Knorpelbildung unterbrochen. Embryo und Mutter müssen für diesen Test sterben. Mit den Zellen eines einzigen Embryos können sehr viele Substanzen getestet werden.

6. Alveolar-Makrophagen-Test

Alveolar-Makrophagen sind Zellen der körpereigenen Abwehr im Atmungstrakt. Diese oder anderen Zellen des Atmungstraktes können bei Probanden durch Nasentupfer oder bei Operationen (z.B. Entfernung von Nasenpolypen) an menschlichen Patienten gewonnen werden. Für die Gewinnung vom Tier, werden bei Ratten oder Schafen Lungenspülungen unter Narkose vorgenommen. Auch primäre Lungenzellkulturen von Mensch (gewonnen bei Operationen), Ratte, Kaninchen, Meerschweinchen oder Hamster werden verwendet. Die Zellen werden in einer Kammer den giftigen Stoffen, wie Ozon, Stickoxid oder Schwefeldioxid ausgesetzt. Anschließend werden Wimpernschlagaktivität sowie Veränderungen von Zellgestalt und -funktion gewebekundlich untersucht.

7. Nervenzellkulturtest

Für diesen Ersatz für den Neurotoxizitätstest werden permanente Nerven-Zelllinien von Mäuse- oder Rattenhirntumoren verwendet. Gibt man diesen Zellen die sogenannte Substanz Dibutyryl cAMP zu, stoppen sie ihre Zellteilung und werden stattdessen zum Wachstum von Fortsätzen angeregt. Organophosphate (kommen in Schmiermitteln und Schädlingsbekämpfungsmitteln vor) hemmen die Bildung von Verzweigungen. Eine Verminderung der Zweiglängen um mindestens 20 % gegenüber den unbehandelten Kontrollzellen wird als Wachstumshemmung gewertet.

8. Organkulturmethoden: An isolierten Kaninchen-, Hühner- und Rinderaugen lassen sich die augenreizenden Eigenschaften von Chemikalien überprüfen. Die Kaninchen werden zur Entnahme der Augen getötet, die Hühner- und Rinderaugen stammen vom Schlachthof. Für Luftröhren-Organokulturen werden Ratten, Meerschweinchen oder Kaninchen getötet. Ihre Luftröhre wird aufgeschnitten und in einer Kammer ausgebreitet. Kohlenstaub, Zigarettenrauch oder andere giftige Stoffe werden aufgesprüht. Mit einem Mikroskop kann der Wimpernschlag der Schleimhautzellen verfolgt werden.

Da für diese Tests Tiere getötet werden müssen, sind andere Ersatzmethoden vorzuziehen.

9. Hefe-Test: Das Zellwachstum von Bier- oder Bäckerhefe wird durch Zugabe giftiger Substanzen gehemmt. Nach Auszählung der Hefezellen wird der IC50-Wert errechnet. Dieser Test ist einfach und bequem durchführbar, extrem kostengünstig, ausgezeichnet reproduzierbar (wiederholbar) und die Ergebnisse zeigen eine gute Vergleichbarkeit mit bekannten LD 50-Werten.

10. Ames-Test

Die DNA (Erbsubstanz) von niederen Organismen wie Bakterien und Pilzen ist der von höheren Lebewesen grundsätzlich ähnlich. Dieser Sachverhalt erlaubt Studien zur erbgutschädigenden Wirkung sowie genetische Grundlagenforschung an Bakterien und

anderen Mikroorganismen. Der *Ames-Test* (s.u.) beispielsweise wird bereits als Routinebestandteil bei Giftigkeitsprüfungen von Chemikalien und Arzneimitteln eingesetzt.

Wenn Bakterien wie *Salmonella typhimurium* auf Nährböden ohne eine bestimmte Aminosäure angezüchtet werden, mutieren sie zu einer Abart, die ohne diese Aminosäure auskommt. Gibt man nun eine erbgutschädigende (mutagene) Substanz hinzu, wird in dem Bakterium das Bedürfnis nach der Aminosäure wiederhergestellt. Mit dem nach seinem Entdecker benannten, 1972 beschriebenen Ames-Test, können mögliche mutagene Eigenschaften von Chemikalien schnell und preiswert identifiziert werden.

11. Pollentest: Pollen sind kleine Körnchen der Samenpflanzen, aus denen die männlichen Geschlechtskerne hervorgehen. Dieser Vorgang wird bei Zugabe giftiger Substanzen gehemmt. Mit Hilfe von automatisierten Verfahren wird die Länge der Kerne ausgemessen und somit der Grad der Giftigkeit eines Stoffes bestimmt.

2.3.4 Grundlagenforschung

1. Mit Nervenzellkulturen kann die Ausschüttung von Überträgerstoffen der Nervenzelle untersucht werden sowie deren pharmakologische Beeinflussung. So kann nach Arzneimitteln im Bereich der Parkinson'schen Krankheit, der Epilepsien und der Schmerzforschung gesucht werden.

2. An Kulturen von Krebszellen können Ausbreitung und Wachstum von Tumoren studiert und neue krebshemmende Medikamente getestet werden.

3. Co-Kulturen der verschiedenen Zellarten menschlicher Arterien lassen sich in der **Arterioskleroseforschung** einsetzen. Die Arterien fallen bei Nieren- und Lebertransplantationen an. So können Ursache und Behandlung von Gefäßwand-Erkrankungen erforscht werden.

4. Kultivierte Herzmuskelzellen behalten auch im Reagenzglas ihre Fähigkeit bei, sich zusammenzuziehen. Mit ihrer Hilfe können physiologische Zusammenhänge und die Wirkung herzwirksamer Medikamente getestet werden.

5. An menschlichen Nierenzellkulturen lassen sich Fragestellungen im Bereich der Krankheitsentstehung, der Arzneitherapie und Toxizität beantworten.

2.3.5 Militärische Forschung

Ersatzmethoden, die in der militärischen Forschung angewendet werden, haben wir nicht herausbekommen.

2.3.6 Entwicklung von Tabak, Waschmitteln und Kosmetik

Schleimhautverträglichkeits-Prüfungen

Im Rahmen des Arbeits- und Verbraucherschutzes werden Industrie-Chemikalien, Haushalts- und Kosmetikprodukten Tests zur Augenreizung unterzogen. Der bereits 1944 beschriebene **Draize-Test** am Kaninchenauge entwickelte sich dabei zur internationalen Standardmethode und wird sowohl von der OECD als auch der EU routinemäßig für die Zulassung neuer Produkte verlangt. Kaninchen werden bevorzugt, weil sie keine Tränendrüsen besitzen. Die Testsubstanz wird dabei Kaninchen in ein Auge geträufelt. Anschließend werden die Schäden beobachtet: je nach Art und Dosierung des Stoffes kann es zu schmerzhaften Entzündungen und schweren Verätzungen des Auges kommen. Der Draize-Test geriet nicht nur wegen seiner Grausamkeit ins Kreuzfeuer der Kritik, sondern auch wegen seiner mangelnden Übertragbarkeit auf den Menschen und schlechten Reproduzierbarkeit (Wiederholbarkeit). Die Beurteilung der Augenschäden ist von der Subjektivität des Ablesers abhängig, so unterliegen die Ergebnisse selbst innerhalb eines Labors oft gravierenden Schwankungen. Zahlreiche in-vitro Methoden wurden entwickelt und zum Teil auch schon validiert. Bislang wurde jedoch keine von internationalen Behörden als Ersatz für den Draize-Test akzeptiert.

1. Roter-Blutkörperchen-Test (RBC-Test): Die in Waschmitteln und anderen Haushaltsprodukten enthaltenen Tenside schädigen die Membran von roten Blutkörperchen. Bei starker Schädigung zerplatzen die Blutkörperchen. Bei diesem Test werden Blutkörperchen von Säugetieren für 10 Minuten mit schrittweisen Verdünnungen der Testsubstanz inkubiert. Die Bestandteile der Flüssigkeit werden dann getrennt (zentrifugiert) und die Menge des ausgetretenen roten Blutfarbstoffes gemessen. Es wird dann die Tensidkonzentration ermittelt, bei der 50 % des Blutfarbstoffes ausgetreten sind.

2. HET-CAM-Test: Als Testorgan wird die direkt unter der Schale eines bebrüteten Hühnereis liegende Haut, die Venen und Arterien, aber keine Nerven enthält, verwendet. Die zu testende Substanz wird auf die Haut geträufelt und die Reaktion beobachtet. Der HET-CAM-Test wurde validiert und zusammen mit dem Neutralrot-Aufnahme-Test von den deutschen Behörden sowie der EU als Vorstufe für den Draize-Test anerkannt.

Erweist sich ein Stoff bei der Hühnereimethode als stark reizend, braucht der Draize-Test nicht durchgeführt zu werden. Alle Stoffe, die im HET-CAM-/Neutralrot-Test keine oder nur schwache Reaktion zeigen, müssen anschließend am Kaninchenauge

geprüft werden. Weitere Ersatzmethoden sind die an anderen Stellen beschriebenen Tests:

- **Leuchtbakterien Test**
- **Neutralrot-Aufnahme-Test (NRU-Test)**

Hautverträglichkeitsprüfungen

1. Neutralrot-Aufnahme-Test (NRU-Test): Dieser Test wurde bereits bei Stoffen und Produkten beschrieben und ist ein Ersatz für den Phototoxizitätstest. Bestimmte Stoffe, die auf die Haut aufgetragen werden oder sich in ihr anreichern, können nach UV-Bestrahlung Reaktionen in der Haut auslösen. Die Methode beruht auf dem Prinzip, dass Zellen einer bestimmten permanenten Zelllinie, nach Zugabe einer möglicherweise schädigenden Substanz (z.B. Körperpflegemittel) und UV-Licht-Bestrahlung, nicht mehr in der Lage sind, einen roten Farbstoff aufzunehmen. Die Resultate aus diesem Test stimmen sehr gut mit den am Menschen gewonnenen Daten überein. Die Methode wurde 1998 in die OECD-Richtlinien aufgenommen. Dennoch wird der Tierversuch in vielen Ländern selbst der EU, z.B. in Frankreich, noch durchgeführt.

2. Zur Bestimmung der Ätzwirkung auf der Haut werden Substanzen auf Wirkung untersucht. Im Tierversuch wurde das Testmittel Kaninchen oder Meerschweinchen auf die geschorene Haut aufgetragen und die Reaktion beobachtet. Zahlreiche Ersatzmethoden wurden entwickelt. So genannte künstliche Haut besteht aus Co-Kulturen verschiedener menschlicher Hautzellen und wird inzwischen kommerziell angeboten. Sie zeichnet sich durch hohe Reproduzierbarkeit aus. Die Ätzwirkung auf der Haut wird durch die Messung des elektrischen Widerstandes bestimmt.

Zwei Tests (**TER**, **EPISKIN®**) wurden 1998 in Europa validiert, ein weiterer in den USA (**CORROSITEX®**). Allerdings wird für TER Rattenhaut verwendet.

2.3.7 Bildung an Schule und Hochschule

1. Mikrochirurgische Übungen an menschlichen Organen

Verschiedene menschliche Organe bzw. Gewebe eignen sich für das Training mikrochirurgischer Operationstechniken. Die Blutgefäße der menschlichen Plazenta (Mutterkuchen), die einen Durchmesser zwischen 4 und weniger als einem Millimeter haben, können auseinander geschnitten und in unterschiedlicher Weise wieder zusammengenäht werden. Die Qualität der Nähte lässt sich durch Einleiten einer Flüssigkeit überprüfen. Will man das Operieren an blutgefüllten Gefäßen üben, kann die Plazenta mit einer gefärbten Flüssigkeit durchströmt werden. Dazu werden Kanülen in die Nabelschnurgefäße gesteckt und an eine Pumpe angeschlossen. Diese treibt das "Blut" mit pulsierendem Rhythmus durch das Gefäßsystem. Der Mutterkuchen ist ein besonderes realitätsnahes Übungsmodell.

Aus therapeutischen Gründen bei menschlichen Patienten entfernte Krampfader eignen sich ebenfalls zum Erlernen von Nahttechniken. In menschlicher Haut, die aus therapeutischen Gründen operativ entfernt wurde, finden sich eine Vielzahl kleinster Blutgefäße und Nerven, die zu Übungszwecken verwendet werden können. Gerade das Freilegen von Strukturen in Blutleere entspricht der klinischen Situation des Wieder-annähens von abgetrennten Körperteilen.

<http://www.datenbank-tierversuche.de>

2. "Development Rat"

Diese lebensgroße Kunststoffnachbildung einer Ratte ist mit auswechselbaren Organen aus weichem Silikon ausgestattet. Die winzigen Blutgefäße können unter dem Operationsmikroskop auseinandergeschnitten und wieder zusammengenäht werden. Herz, Leber und Nieren können "transplantiert", d.h. in die "Development Rat" eingenäht werden. Sind alle Gefäße und Organe mit Nähten versehen, kommt ein neuer Satz Organe zum Einsatz.

<http://www.datenbank-tierversuche.de>

3. Mikrochirurgische Übungen an Tierorganen

Verschiedene Organe oder Organteile von geschlachteten Tieren können für das Erlernen mikrochirurgischer Techniken eingesetzt werden: Gefäße und Nerven des Hähnchenschenkels, des Hähnchenhalses, des Schweinevorderlaufs und des Schweineherzens. Die Gefäße können mit einer gefärbten Flüssigkeit durchströmt werden, um eine Blutzirkulation zu simulieren. Dazu werden in Blutgefäße gesteckte Kanülen an eine Pumpe angeschlossen, die die Flüssigkeit in einem pulsähnlichen Rhythmus zirkulieren lässt. So kann das Operieren an "blutdurchströmtem" Gewebe geübt werden.

<http://www.datenbank-tierversuche.de>

4. Ausbildung in minimal invasiver Chirurgie - POP-Simulationstrainer

(Minimal invasive Chirurgie ist eine schonende Operationsmethode mit Katheter = Röhre/Schlauch mit Werkzeug/Kamera)

Organe von geschlachteten Tieren werden an die Pumpe des POP-Trainers angeschlossen. POP steht für Pulsierende Organ Perfusion, d.h. das Organ wird pulsierend mit rot gefärbtem Wasser durchströmt. Das Gerät wird mit einer Neoprenmatte verschlossen, die die Bauchdecke ersetzt. Mit dieser Anordnung lässt sich die Durchblutung von Organen äußerst realistisch imitieren. So können auch "Blutungen" und die Beherrschung solcher Komplikationen geübt und - im Gegensatz zum Tierversuch - beliebig oft wiederholt werden. Es können verschiedene Operationen

an Leber/Gallenblase, Herz/Lunge, Niere, Darm und Gebärmutter geübt werden.

<http://www.datenbank-tierversuche.de>

5. "Schnippelkurs" mit natürlich gestorbenen Tieren

Die gleichen Lernziele, nämlich das Kennenlernen der inneren Strukturen verschiedener Vertreter des Tierreichs sowie die manuelle Technik des Präparierens

können auch mit nicht extra für diesen Zweck getöteten Tieren erreicht werden. Die Verwendung von Tieren, die entweder tot aufgefunden oder aus medizinischer Indikation eingeschlafert worden sind, erfüllt den gleichen Zweck. Verunfallte Tiere, wie z.B. bei der Frühjahrs-wanderung ums Leben gekommene Kröten und Frösche, in Pfützen ertrunkene Regenwürmer, tote Insekten, Würmer, evtl. auch Mäuse und Vögel in Feld und Wald können von den Studierenden gesammelt und bis zum Praktikumstag eingefroren werden. Die Leichen kleiner Tiere, wie Ratten, Hamster, Meerschweinschen oder Wellensittiche können vom Tierarzt bezogen werden. Die Tiere sollten nicht wegen übertragbarer Krankheiten eingeschlafert worden sein.

Rund 60.000 Tiere, davon 15.000 Wirbeltiere werden jedes Jahr zu Ausbildungszwecken getötet. Den mit Abstand größten Anteil, 86,2 % haben die morphologischen Praktika ("Schnippelkurse").

<http://www.datenbank-tierversuche.de>

6. Plastinationen: Bei diesem Verfahren werden tote Tiere oder Organe in einen plastikartigen, praktisch unbegrenzt haltbaren Zustand überführt und können so Jahr für Jahr für Bildung an Schule und Hochschule verwendet werden.

7. Eine Variante von isolierten Organen stellen **Organ- oder Gewebeschnitte** dar. Organe werden nach Tötung des Tieres in dünne Scheiben geschnitten. An den Schnitten können Stoffwechselleistungen und elektrische Phänomene studiert werden. Insbesondere bei Untersuchungen am Zentralnervensystem spielen Hirnschnitte eine wichtige Rolle.

8. Computersimulation: Im Bereich der studentischen Ausbildung können Computersimulationsprogramme die natürlichen Lebensvorgänge des Körpers veranschaulichen und die berüchtigten Froschversuche überflüssig machen.

9. Audio-visuelle Medien

Videofilme oder Modelle eignen sich für den Anschauungsunterricht im Medizin-, Tiermedizin- und Biologiestudium.

Andere Methoden

Datenbanken

Um eine Vielzahl bereits gemachter Tierversuche nicht erneut durchzuführen und dabei Mengen von Tieren zu verbrauchen, gibt es Datenbanken, die die Testergebnisse speichern. So können Mehrfachversuche verhindert werden.

Quellen für das Kapitel Ersatzmethoden:

- Ärzte gegen Tierversuche
<http://www.aerzte-gegen-tierversuche.de>
- Deutscher Tierschutzbund e.V. und Akademie für Tierschutz
<http://www.tierschutzbund.de> und "du und das tier" 2/2002 Seite 38/39
- Bundesverband der Tierversuchsgegner - Menschen für Tierrechte e.V.

2.4 Was ist Validierung?

Bevor eine Ersatz- oder Ergänzungsmethode als anwendbar bewertet wird, muss in langwierigen Versuchsreihen ihre Aussagekraft und ihre Treffsicherheit überprüft und dargelegt werden. Dabei wird diese neue Methode mit Ergebnissen aus einem Tierversuch verglichen. Dieses Verfahren nennt man Validierung. Erst wenn die zuständigen Behörden die dabei ermittelten Daten anerkennen, kann eine neue Methode einen bislang vorgeschriebenen Tierversuch ersetzen.

Leider liegen viele dieser Daten aus patentrechtlichen Gründen bei der Industrie unter Verschluss, ein Umstand, der die Validierung und Anerkennung von zahlreichen tierversuchsfreien Methoden behindert.

Diese **Validierung** erfolgt in fünf Schritten:

- a) Testentwicklung: Das neue Verfahren wird entwickelt und der Bereich, für welchen der Test eingesetzt werden soll, wird genau bestimmt.
- b) Prävalidierung: Labore überprüfen mit der neuen Methode bestimmte, bereits im Tierversuch untersuchte Substanzen. Es soll festgestellt werden, ob die Methode wiederholbare Ergebnisse liefert und standardisierbar ist.
- c) Experimentelle Validierung: Die neue Methode wird in mehreren Laboren getestet, um zu ermitteln, ob die Versuchsdaten der verschiedenen Labore sich untereinander entsprechen.
- d) Evaluierung: Die Versuchsergebnisse aus dem neuen Testverfahren werden mit den Daten aus dem Tierexperiment verglichen. Bewertet die neue Methode die Prüfsubstanz genauso wie den Tierversuch, ist sie aussagefähig (valide).
- e) Akzeptierung: Das Verfahren gewinnt Eingang in die bestehenden Prüfvorschriften.

Mit anderen Worten, eine tierversuchsfreie Methode wird nur behördlich anerkannt, wenn ihre Ergebnisse mit denen des entsprechenden Tierversuchs übereinstimmen. Das Problem dabei ist, dass der Tierversuch selbst nie validiert wurde. Er wurde und wird von den Wissenschaftlern einfach akzeptiert, obwohl die Ergebnisse aus Tierversuchen ungenau, nicht verlässlich reproduzierbar und nicht auf die Situation beim Menschen übertragbar sind. Die Qualität neuer, sinnvoller Testsysteme wird also an einer schlechten, veralteten Methode gemessen. Wirklich aussagekräftige in-vitro- Systeme haben so kaum eine Chance, jemals behördlich anerkannt zu werden. Die Validierung am Tierversuch ist unsinnig, zu fordern wäre ein Vergleich der neuen Methode mit bekannten Daten aus der Humanmedizin.

Das größte Hindernis:

Die meisten heute angewandten Tierversuche sind niemals wissenschaftlich auf ihre Genauigkeit, Bedeutung und Wiederholbarkeit überprüft worden. Im Gegensatz dazu werden Ersatzmethoden extrem langen Validierungsstudien unterzogen, die mehr als 10 Jahre dauern können. Während der Validierung werden Ersatzmethoden mit diesen niemals validierten Tierversuchen verglichen, die sie ersetzen sollen.

Ein weiterer Grund für die Beibehaltung des Tierversuchs in einigen Teilbereichen ist die noch zu geringe Anzahl an hochwertigen in-vitro- Methoden. Zwar gibt es schon heute eine ungeheure Menge an solchen Verfahren, doch ist das Potential bei weitem noch nicht ausgeschöpft. Was vor wenigen Jahren noch undenkbar war, ist heute schon Routine. Die rasante Entwicklung in diesem Bereich lässt positiv in die Zukunft schauen. Jedoch kann sich dieser Forschungszweig nur bei ausreichender finanzieller Förderung entwickeln. Von der Bundesregierung wird die tierversuchsfreie Forschung immer noch geradezu stiefmütterlich behandelt. Nur etwa 4 Millionen Euro im Jahr werden hierfür zur Verfügung gestellt. Ein lächerlicher Betrag, im Vergleich zu den Unsummen, die in die Tierversuchsforschung fließen. Allein im Bereich der Gentechnik wurden im Jahr 1999 Forschungsprojekte mit 150 Millionen Euro gefördert.

2.5 Wer arbeitet an der Entwicklung von Ersatzmethoden

ZEBET

Entscheidenden Anteil an der behördlichen Anerkennung von in-vitro- Methoden hat die **ZEBET** - die Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch - mit Sitz in Berlin.

Die **ZEBET** unterhält eine Datenbank und bietet wertvolle Informationen über in-vitro- Systeme. Sie enthält derzeit 55 Einträge, wird aber ständig erweitert. Jeder Eintrag ist nicht, wie bei MEDLINE die Zusammenfassung einer einzelnen Publikation, sondern ist mehr eine Analyse eines bestimmten Forschungsbereichs mit detaillierten Angaben zum herkömmlichen Tierversuch und den möglichen tierversuchsfreien Verfahren. Außerdem enthalten die Einträge Daten zum aktuellen Validierungsstand der jeweiligen Methoden. Mit Hilfe der Literaturangaben (insgesamt 4000) können weiterführende Informationen eingeholt werden.

ECVAM

Außerdem einen wichtigen Anteil an der behördlichen Anerkennung von in-vitro- Methoden hat die **ECVAM** - European Centre for Validation of Alternative Methods - mit Sitz in Ispra, Italien. In beiden Einrichtungen, der ZEBET und der ECVAM, werden die modernen Verfahren dokumentiert, getestet und validiert. Eine weitere Aufgabe besteht in der Einführung dieser in-vitro- Tests in gesetzliche Vorschriften. Die hervorragende Arbeit dieser beiden Einrichtungen hat nicht zuletzt dazu beigetragen, dass heute auf manch einen Tierversuch verzichtet wird. Die finanziellen und personellen Möglichkeiten dieser Einrichtungen sind jedoch äußerst begrenzt, eine verstärkte Förderung ist unbedingt notwendig.

Andere Institute, Datenbanken und Verbände

DIMDI, FreeMEDLINE, ZEBET <http://www.dimdi.de>

Über das Deutsche Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) erhält man kostenlosen Zugang zu verschiedenen medizinischen Datenbanken wie MEDLINE, AIDSLINE, CANCERLIT, TOXLINE sowie ZEBET. "Datenbank" anklicken, dann "free grips-WebSearch", dann "FreeMEDLINE and more", dann die gewünschte Datenbank. Die Abfragen können nach Autor, Institut, Stichworten usw. erfolgen. Dabei kann die Suche mit AND, OR bzw. NOT eingeschränkt werden.

FreeMEDLINE wird von der US National Library of Medicine unterhalten und ist eine der wichtigsten medizinischen Datenbanken der Welt. Sie enthält 9 Millionen Einträge seit 1966. Wer hier nach in-vitro- Methoden sucht, sollte schon genau wissen, was er/sie sucht und die Abfrage möglichst präzise stellen. Gibt man beispielsweise nur das Stichwort "LD50" ein, erzielt man 12.023 Treffer. Bei der Ausgabe der ausgewählten Arbeiten, erhält man die meist englischen Zusammenfassungen der in wissenschaftlichen Zeitschriften erschienenen Publikationen.

CAAT <http://caat.jhsph.edu/> und **ALTWEB** <http://altweb.jhsph.edu/>

Die John Hopkins Center for Alternatives to Animal Testing (CAAT) in Baltimore/USA, unterstützt tierversuchsfreie Forschung finanziell, mit Workshops und Publikationen. Es unterhält außerdem die Internet-Datenbank **ALTWEB**, eine Gemeinschaftsarbeit von verschiedenen amerikanischen Stiftungen, Vereinen sowie Industrievertretern. "Alternativen" werden hier nach dem 3R-Prinzip definiert. Mit einer speziellen Suchmaschine können die Datenbanken MEDLINE, TOXLINE und AGRICOLA simultan abgesucht werden.

MEIC <http://www.cctoxconsulting.a.se>

Das Nordische Zentrum für Alternativmethoden (NICA) bietet eine Datenbank der so genannten MEIC Studie (Multicentre Evaluation of in-vitro Cytotoxicity). In dieser Studie wurden 50 ausgewählte Chemikalien in zahlreichen Labors der ganzen Welt mit 200 verschiedenen in-vitro- Systemen getestet. Jede dieser Methoden wird detailliert beschrieben. Die Ergebnisse der Studie werden mit aus verschiedenen Quellen stammenden Giftigkeitsdaten aus der Humanmedizin verglichen.

NORINA <http://oslovets.veths.no/NORINA>

In dieser von der Universität Oslo unterhaltenen Datenbank sind 4000 tierverbrauchsfreie Lehrmethoden erfasst. Computerprogramme, Modelle, Videos und andere Produkte, die den "Tierverbrauch" in der studentischen Ausbildung ersetzen können, werden ausführlich, inklusive Quellenangabe, beschrieben.

AVAR <http://www.avar.org>

Auf dieser Seite der Association of Veterinarians for Animal Rights (AVAR) können Informationen zu Tierschutzthemen im Allgemeinen sowie "Tierverbrauch" im Tiermedizinstudium im Besonderen abgerufen werden. AVAR bietet darüber hinaus eine Datenbank zu "tierverbrauchsfreien" Lehrmethoden, ähnlich wie NORINA an, die jedoch etwas unpraktischer zu handhaben ist.

Invitroderm <http://www.invitroderm.com/>

Diese Datenbank enthält 200 Angaben zu in-vitro- Methoden aus dem Bereich Hautverträglichkeit.

INVITTOX <http://www.invittox.com>

INVITTOX ist eine Gemeinschaftsproduktion von ERGATT, FRAME und ECVAM. Die Datenbank enthält derzeit 114 Protokolle zur technischen Durchführung von in-vitro- Methoden aus dem Bereich der Giftigkeits-Prüfungen. Die Informationen stammen von Wissenschaftlern, die diese Methoden selbst anwenden, und sind so detailgenau, dass sie Forschern eine problemlose Anwendung ermöglichen.

ICCVAM <http://iccvam.niehs.nih.gov/>

The Interagency Coordinating Committee for the Evaluation of Alternative Methods (ICCVAM) koordiniert die Entwicklung, Validierung und Harmonisierung (Vereinheitlichung) von toxikologischen in-vitro- Methoden in den USA und ist somit eine Art amerikanisches Gegenstück zu ECVAM. Die Internetseite enthält Hintergrundmaterial zu in-vitro- Methoden in der Toxikologie.

FRAME <http://www.frame-uk.demon.co.uk/>

Der Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments (FRAME) mit Sitz in Nottingham, England unterhält eine Internetseite, auf der allgemeine Informationen über 3-R Methoden abgerufen werden können. Interessant sind vor allem eine Aufstellung von kostenlosen und kommerziellen Internet-Datenbanken sowie Tipps zur Vorgehensweise bei der Suche nach tierversuchsfreien Verfahren.

AWIC <http://www.nal.usda.gov/awic/alternatives/tips.htm>

Animal Welfare Information Center (AWIC) ist beim US Department of Agriculture angesiedelt und gibt auf dieser Seite sehr gute und ausführliche Tipps zur [in-vitro](#)- Internetsuche.

UCCAA http://www.vetmed.ucdavis.edu/animal_alternatives/main.htm

Diese Seite der University of California, Center for Animal Alternatives beinhaltet allgemeine Informationen zu 3-R Themen sowie spezielle Ausführungen zu Themen, wie Monoklonalen Antikörpern. Darüber hinaus bietet UCCAA einen Suchservice an. Wer eine bestimmte Methode sucht und in den gängigen Datenbanken nicht fündig geworden ist, kann sich von UCCAA helfen lassen. Für US\$ 75 werden 3 Publikationen zum gesuchten Thema ausgesucht und zugeschickt. US\$ 5 kostet jeder zusätzliche Artikel.

ATCC <http://www.atcc.org/>

Für im in-vitro- Bereich tätige Forscher sind Datenbanken über Zellkulturen unerlässlich. Der Katalog der American Type Culture Collection (ATCC) gibt Auskunft über Tausende von Zellkulturen. Er kann nach Tierart, Zellart und speziellen Eigenschaften der Kultur durchsucht werden. Über ATCC können auch andere Zellkultursammlungen abgefragt werden, wie z.B. **HDB** (International Hybridoma Datenbank) <http://phage.atcc.org/hdb/hdb.html> und **NCI (Human Tumor Cell Line Database)** <http://phage.atcc.org/nci-lines/search.html>.

NCA <http://www.pdk.dgk..ruu.nl/nca>

Das Netherlands Centre for Alternatives to Animal Use (NCA) bearbeitet eine Datenbank zur Entwicklung und Validierung von Ersatzmethoden.

Akademie für Tierschutz im Deutschen Tierschutzbund e.V.

Die Akademie für Tierschutz des Deutschen Tierschutzbundes e.V. wurde 1986 in Neubiberg bei München eröffnet. Sie ist Begegnungsstätte und führt Aus- und Fortbildungsveranstaltungen durch, erstellt Informationsmaterial über Tiere und Tierschutz und engagiert sich im praktischen Tierschutz. Im eigenen Zellkulturlabor werden in wissenschaftlichen Forschungsprogrammen tierversuchsfreie Methoden weiterentwickelt. In einer Datenbank sind mehr als 15.000 wissenschaftliche Veröffentlichungen gespeichert. Eine bibliographische Datenbank zu Ersatzmethoden ist abgedruckt in der Buchreihe "Gelbe Liste". Email: akademie.fuer.tierschutz@muenchen.org

SET - Stiftung zur Förderung der Erforschung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zur Einschränkung von Tierversuchen

Die SET wurde 1986 gegründet. In dieser Stiftung beraten und entscheiden Industrie und Tierschützer gemeinsam, welche Forschungsprojekte in Angriff genommen werden müssen, um die Zahl der jährlich verwendeten Versuchstiere möglichst wirkungsvoll zu verringern.

Ärzte gegen Tierversuche <http://www.aerzte-gegen-tierversuche.de>

Homepage der Vereinigung "Ärzte gegen Tierversuche" e.V. mit zahlreichen Artikeln zum Thema Tierversuche.

Datenbank Tierversuche <http://www.datenbank-tierversuche.de>

Die Datenbank beinhaltet Details zu weit über 1000 Tierversuchen, die in den letzten Jahren in Deutschland durchgeführt wurden sowie viele weitere Infos über Tierversuche und tierversuchsfreie Verfahren (erstellt von Ärzten gegen Tierversuche).

Menschen für Tierrechte - Bundesverband der Tierversuchsgegner

<http://www.tierrechte.de>

Homepage von Menschen für Tierrechte - Bundesverband der

Tierversuchsgegner

SATIS <http://www.tierrechte.de/satis/>

1988 hat sich die **Studentische Arbeitsgruppe gegen Tierverbrauch im Studium** gegründet. SATIS will, dass allen Studenten die Möglichkeit gegeben wird, das Studium ohne den Verbrauch von Tieren zu beenden. Daraus darf niemandem ein Nachteil entstehen. Langfristig soll jeder Tierverbrauch in der Ausbildung abgeschafft werden. Außerdem werden Studenten bei Klagen finanziell unterstützt.

Mehrere Studenten haben ihren Kampf gegen Tierversuche im Studium auch vor Gericht durchgeführt. Sie mussten häufig einen erbitterten Widerstand von Professoren erfahren, die sich gegen Veränderungen bei der Lehre gewehrt haben. Als Begründung für die Ablehnung der Gerichte muss meist die im Grundgesetz verankerte Freiheit der Lehre erhalten, die einen höheren Rang haben soll als die Gewissensfreiheit. Es bleibt abzuwarten, ob der nun auch im Grundgesetz enthaltene Schutz der Tiere hier eine Veränderung bewirken wird.

Auch wenn manche Studenten diesen Kampf gerichtlich verloren haben, hat ihr Kampf vielerorts zu einem Umdenken geführt. An einigen Hochschulen haben schon Ersatzmethoden Einzug gehalten. Viele Experten haben Ersatzmethoden weiterentwickelt und dokumentiert.

afi - animal farm investigation <http://www.tierschutz-medienarchiv.de>

Das Medienarchiv afi enthält zahlreiche Bilder von Tierversuchen und in-vitro Methoden sowie Aufnahmen aus anderen Tierschutzbereichen.

Es gibt noch weitere Datenbanken, die hier nicht genannt sind, besonders in den U.S.A. Über die o.g. Datenbanken sind jedoch häufig sogenannte Links eingestellt, über die diese dann erreicht werden können. Es gibt

auch noch weitere Homepages von Tierschützern, die Informationen über Tierversuche anbieten. Diese kann jeder selbst herausfinden über die Suchmaschinen im Internet, z.B. zum Stichwort "Tierversuche".

Internationale Zusammenarbeit bei der Entwicklung von Ersatzmethoden

Viele Internationale Organisationen (z.B. Europarat, Weltgesundheitsorganisation WHO, Europäische Union, OECD etc.) arbeiten zusammen, um eine Harmonisierung der Prüfbedingungen zu erreichen.

Es gibt z.B. die Internationale Konferenz über Harmonisierung (ICH), die die Aufgabe übernommen hat, gemeinsame Empfehlungen für die Regionen USA, Japan und Europa zur Prüfung der Qualität, Sicherheit und Wirksamkeit von Arzneimitteln zu erarbeiten. Ziel ist die Angleichung unterschiedlicher fachlicher Anforderungen. Aufgrund der derzeit bestehenden Unterschiede sind Unternehmen unter Umständen gezwungen, Prüfungen zu wiederholen oder Daten in unterschiedlichen Formaten

vorzulegen, um den Anforderungen der jeweiligen Gesundheitsbehörden gerecht zu werden.

Diese Harmonisierung fördert leider nicht nur Ersatzmethoden, aber immerhin können durch eine Angleichung der Prüfanforderungen Mehrfachversuche vermieden werden.

Im Hinblick auf eine Globalisierung der Wirtschaftsbeziehungen ist eine Weiterentwicklung von Ersatzmethoden ohne internationale Zusammenarbeit nicht mehr denkbar. So arbeiten mehrere der bereits genannten Institute auf dem Gebiet der Forschung und Entwicklung von Ersatzmethoden zusammen, z.B. die ZEBET mit der ECVAM. Diese Zusammenarbeit erstreckt sich vor allem auf die Validierung von Ersatzmethoden. Zudem haben sich z.B. Tierschützer und Forscher bereits mehrfach zu Weltkongressen zusammengefunden, um Erfahrungen auszutauschen und Strategien zur Entwicklung von Ersatzmethoden zu entwickeln.

Zusammenarbeit von Tierschützern in internationalen Organisationen

Die Eurogroup For Animal Welfare <http://www.eurogroupanimalwelfare.org> ist ein Zusammenschluss von europäischen Tierschutzorganisationen seit 1980. Sie arbeitet an der Unterstützung der europäischen Tierschutzgesetzgebung und vertritt die Interessen seiner Mitglieder-Organisationen gegenüber den EU-Institutionen.

ECEAE - European Coalition to End Animal Experiments

<http://eceae.org/deutsch>

ist die Europäische Koalition zur Beendigung von Tierversuchen. Aus Deutschland arbeiten der Deutsche Tierschutzbund e.V. und Menschen für Tierrechte e.V. mit.

Auch hier werden die Interessen seiner Mitglieder gegenüber den EU-Institutionen vertreten.