

## **EU-Chemikalienrecht und Verbraucherschutz**

Erstes BfR-Forum Verbraucherschutz am 23. und 24. Juni 2005

## **Alternative Testverfahren und intelligente Teststrategien**

Horst Spielmann

**ZEBET - Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz-  
und Ergänzungsmethoden zu Tierversuchen im BfR**

## Themen

- Etablierung tierversuchsfreier toxikologischer Prüfmethoden
- 8 Forderungen/Positionen des BfR zum Ersatz und zur Reduktion toxikologischer Tierversuche Im Rahmen von REACH

## **EU Richtlinie 86/609/EWG zum Schutz von Versuchstieren**

Richtlinie des Rates zur Annäherung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedstaaten zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere

24. November 1986

### **Artikel 7.2**

**Ein Tierversuch darf nicht durchgeführt werden, wenn eine wissenschaftlich fundierte tierversuchsfreie Methode zur Verfügung steht, die in der Praxis erprobt ist.**

### **Artikel 23**

**(1) Die Kommission und die Mitgliedstaaten sollen die Entwicklung und Validierung alternativer Techniken fördern, die dem Tierversuch vergleichbare Ergebnisse liefern könnten, jedoch weniger Tiere erfordern und mit weniger Schmerzen verbunden sind, und treffen sonstige nach ihrer Auffassung geeignete Maßnahmen, um die Forschung auf diesem Gebiet zu fördern.**

## Definition Alternativmethoden

**“3R”-KONZEPT von RUSSEL & BURCH**  
(1959, 1992)

*The Principles of Humane Experimental Technique*

- **REFINE**                      **VERBESSERN**  
höhere Qualität der Versuche (neue Endpunkte) bei reduziertem Leiden der Tiere
- **REDUCE**                      **VERMINDERN**  
gleiche Qualität der Aussage mit geringerer Tierzahl (Biometrie!)
- **REPLACE**                      **VERMEIDEN**  
vollständiger Ersatz der Tierversuche

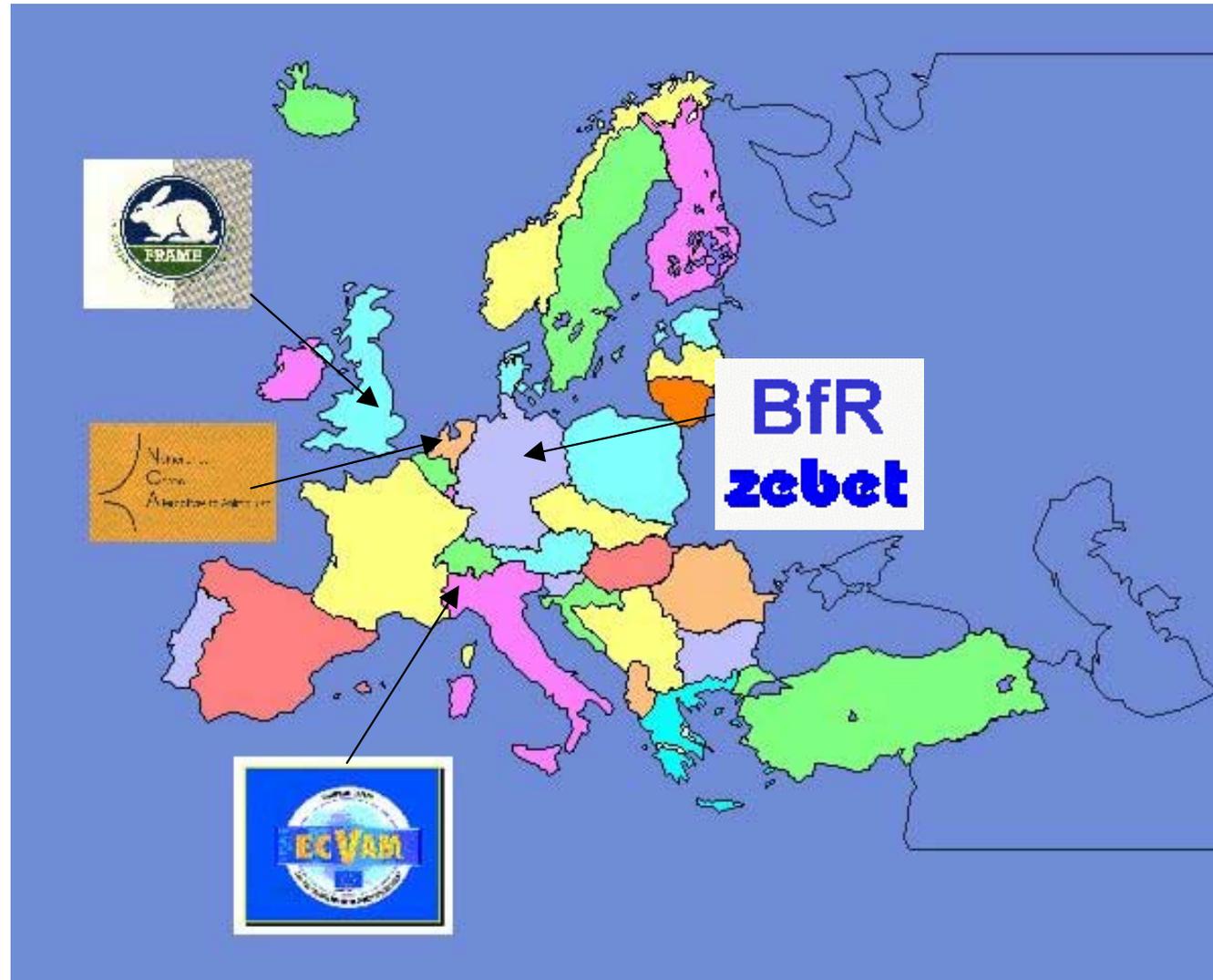
# Alternative Testverfahren und intelligente Teststrategien

## EUROPÄISCHE ZENTREN FÜR ALTERNATIVMETHODEN ZU TIERVERSUCHEN

1998



ICCVAM  
USA



2001



POLAND

# Alternative Testverfahren und intelligente Teststrategien

## ZEBET Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz und Ergänzungsmethoden zu Tierversuchen



**BfR Bundesinstitut für Risikobewertung**

Suche:

Biologische Sicherheit >>> | Lebensmittelsicherheit >>> | Sicherheit von Stoffen >>> | Produktsicherheit >>>

### Wissenschaft im Dienst des gesundheitlichen Verbraucherschutzes

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist die wissenschaftliche Einrichtung der Bundesrepublik Deutschland, die auf der Grundlage international anerkannter wissenschaftlicher Bewertungskriterien Gutachten und Stellungnahmen zu Fragen der Lebensmittelsicherheit und des gesundheitlichen Verbraucherschutzes erarbeitet. Das BfR formuliert, basierend auf der Analyse der Risiken, Handlungsoptionen zur Risikoreduzierung. Das Institut nimmt hiermit eine wichtige Aufgabe bei der Verbesserung des Verbraucherschutzes und der Lebensmittelsicherheit wahr. Die Bewertungen sollen für Öffentlichkeit, Wissenschaft und andere beteiligte oder interessierte Kreise transparent dargestellt und nachvollziehbar sein. Die Bewertungsergebnisse werden - unter Wahrung der Vertraulichkeit geschätzter Daten - öffentlich zugänglich gemacht. [mehr >>>](#)

### Verwechslungsgefahr bei Bärlauch

Bärlauch hat sich als schmackhaftes Küchenkraut in den vergangenen Jahren einer wachsenden Popularität erfreut. Das frische Kraut wird für Käsequark, in Suppen und Soßen oder im Salat verwendet. Aufgrund dieser Beliebtheit zieht es immer mehr Menschen in den Wald, um das herzhafte Lauchgewächs selbst zu sammeln. Wenn die Frühsommerstage im April sonniger und zunehmend wärmer werden und die Pflanzen ihren charakteristischen Duft verströmen, beginnt für viele die Bärlauch-Saison. „Obwohl der knoblauchähnliche Geruch ein typisches Kennzeichen des Bärlauchs ist, wird die Pflanze von Sammlern immer wieder mit giftigen Doppelgängern wie Maiglöckchen oder Herbstzeitlose verwechselt“, sagt BfR-Präsident Professor Dr. Dr. Andreas Hensel. Solche Verwechslungen führen laut BfR regelmäßig zu Vergiftungsfällen mit zum Teil tödlichen Folgen. [mehr >>>](#)



### Weitere aktuelle Themen

- ▶ Vertrieb und Import von Lebensmitteln inklusive Nahrungsergänzungsmitteln (Information Nr. 011/2005 des BfR vom 05.04.2005) 32 KB
- ▶ Acrylamid in Lebensmitteln – Neue Ergebnisse bei der 64. JECFA-Sitzung in Rom (Information Nr. 012/2005 des BfR vom 15.03.2005) 23,9 KB
- ▶ Übergang von Weichmachern aus Schraubdeckel-Dichtmassen in Lebensmittel (Stellungnahme Nr. 010/2005 des BfR vom 14.02.2005) 44,6 KB
- ▶ Morbus Crohn und Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis (Literaturstudie des RKI und BfR vom 21.12.2003) 692,5 KB
- ▶ Glets' Day – Mädchen-Zukunftstag im BfR
- ▶ Beteiligung des Erregers der Paratuberkulose des Rindes an der Entstehung von Morbus Crohn unwahrscheinlich, aber nicht auszuschließen

### Borsäure in Hüpfknete

Hüpfknete ist eine bei Kindern beliebte Kreuzzug aus Knete und Futtermittel. Bei der Herstellung wird unter anderem Stärke aus Weizen verwendet. Das BfR hat abgeschätzt, wie viel Borsäure beim Umgang mit Hüpfknete in den Körper gelangen kann. Ergebnis: Bereits beim Spielen kann es zur erhöhten Aufnahme von Borsäure kommen. Da Borsäure fruchtenschädigend wirken kann, sollte der Gehalt in Spielwaren so niedrig wie möglich sein. (PDF-Datei, 48,2 KB) [mehr >>>](#)

### Alternativen zum Nachweis von Algengiften in Muscheln

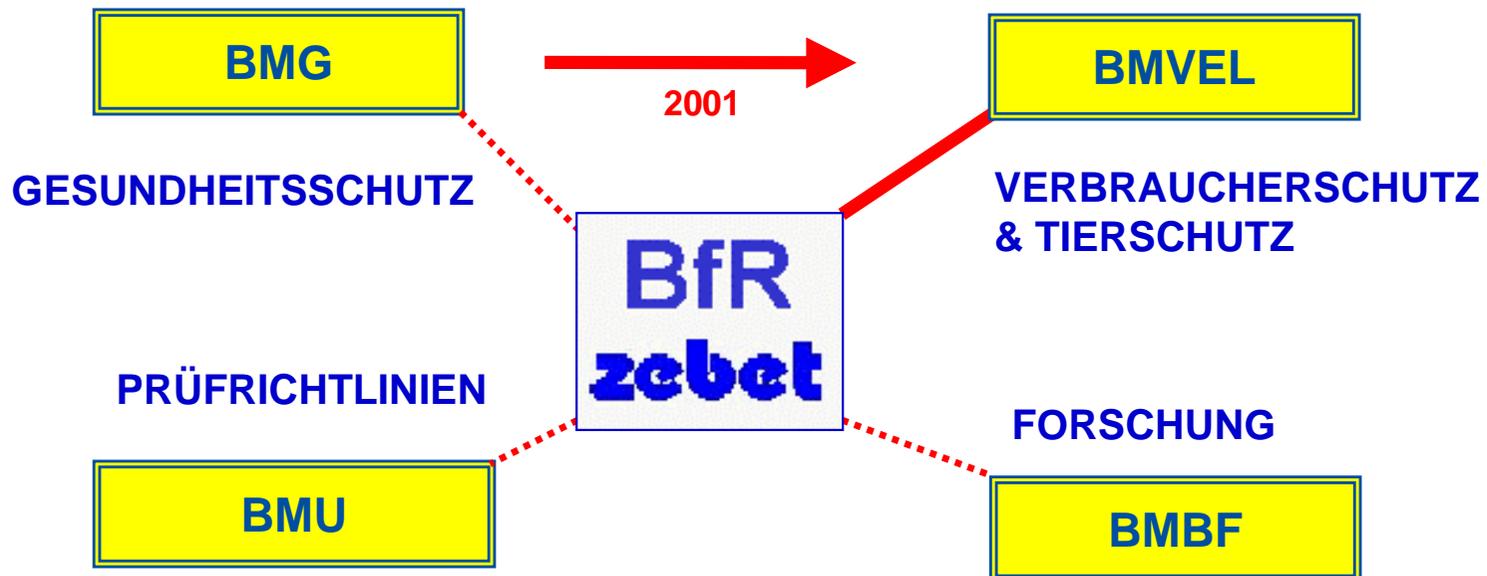
Lebende Muscheln werden im Rahmen der Lebensmittelüberwachung auf Algengifte, so genannte marine Biotoxine, untersucht. Das BfR kritisiert die Anwendung eines Tests an Mägen als routinemäßig einzusetzende Referenzmethode zum Nachweis dieser Algengifte. Das Institut hat chemisch-physikalische Messverfahren für besser

# Alternative Testverfahren und intelligente Teststrategien

## ORGANISATION



## ZUORDNUNG ZU MINISTERIEN



## ZEBET's "Mission"

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

## Ergebnisse

1. Datenbank AnimAlt-ZEBET, <http://www.bfr.bund.de>
2. Forschungsförderung: 60 Projekte von 1990 - 2000
3. Erfolgreiche Validierungsstudien 1996 - 2000
  - 3T3 NRU in vitro Phototoxizitäts-Testung: OECD Methode
  - Hautmodelle zur Phototoxizitäts-Testung: OECD Methode
  - 3 in vitro Embryotoxizitäts Tests, u.a. EST
4. ECVAM Validierungsstudie zur Prüfung auf hautreizende Eigenschaften mit Hautmodellen: Koordinierung
5. Wissenschaftliches Forum
  - ATLA, Altex, AltWeb
  - Kongreß über Alternativmethoden in Linz , jährlich
  - & 5. Weltkongress über Alternativmethoden 2005 Berlin

### **BfR Position 1**

*In vitro*-Methoden werden in der Zukunft preiswerter und schneller durchzuführen sein als Tierversuche. Das macht validierte *in vitro*-Methoden attraktiv für die Erstellung toxikologischer Basisinformationen.

### REACH Basisinformationen:

1. Reiz- und Ätzwirkung an den Haut - *in vitro*
2. Augenreizung - *in vitro*
3. Sensibilisierung an der Haut - LLNA „*ex vivo*“
4. Mutagenität - Ames Test
5. Aquatische Toxizität - Daphnien

## **BfR Position 2**

Bei Stoffen mit einer Jahresproduktion von weniger als einer Tonne müssen toxikologische Grunddaten mit *in vitro*-Methoden erhoben werden.

### *REACH Basisinformationen:*

- 1. Reiz- und Ätzwirkung an den Haut - in vitro*
- 2. Augenreizung - in vitro*
- 3. Sensibilisierung an der Haut - LLNA „ex vivo“*
- 4. Mutagenität - Ames Test*
- 5. Aquatische Toxizität - Daphnien*

***Diese Forderung ist aus Sicht des Verbraucherschutzes erforderlich.***

### **BfR Position 3**

Bei Stoffen mit einer Jahresproduktion von 1 bis 10 Tonnen müssen zusätzliche toxikologische *in vitro*-Prüfungen durchgeführt werden.

REACH Basisinformationen:

1. Reiz- und Ätzwirkung an den Haut - *in vitro*
2. Augenreizung - *in vitro*
3. Sensibilisierung an der Haut - LLNA „*ex vivo*“
4. Mutagenität - Ames Test
5. Aquatische Toxizität - Daphnien

**& BfR Forderungen**

**6. Akute Toxizität - Zytotoxizität**

**7. Mutagenität - *in vitro* Genmutation an Säugerzellen**

## Prüfungen bei mehr als 10 Tonnen

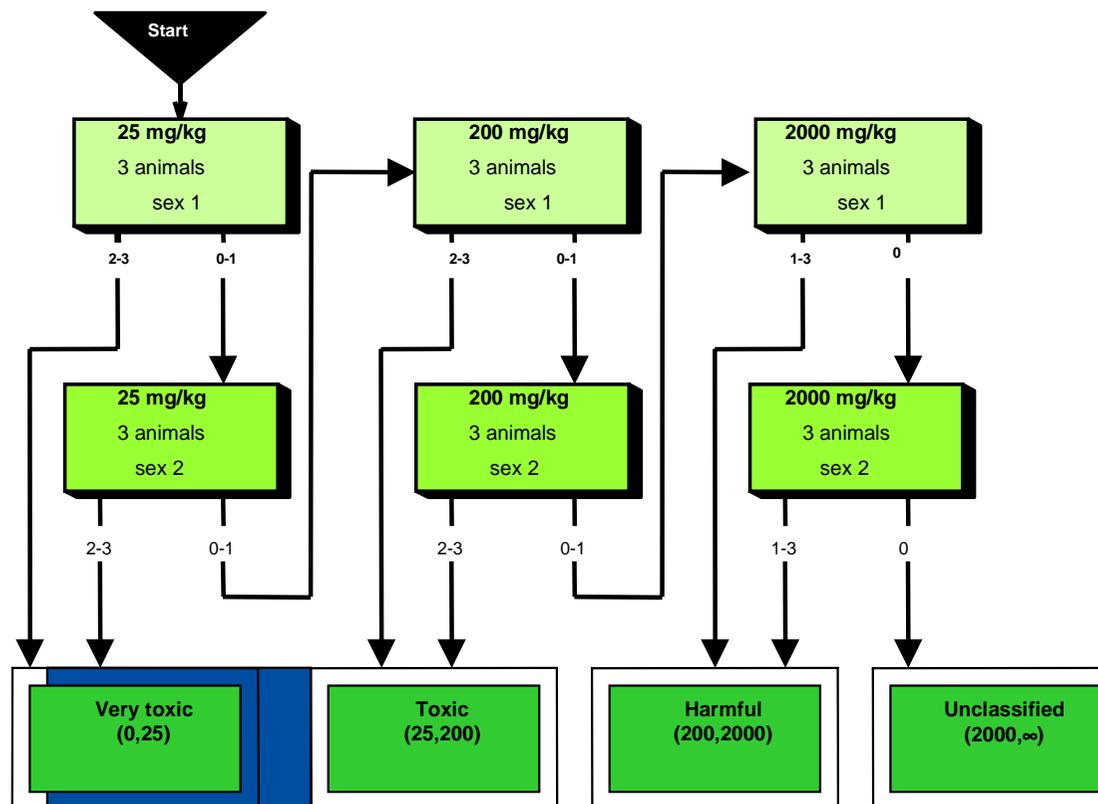
1. Reizung der Haut - in vitro,  
BfR koordiniert in ECVAM Validierungsstudie 2003-2005
2. Augenreizung - in vitro  
ICCVAM & ECVAM evaluieren vorhandene Daten
3. Sensibilisierung an der Haut - LLNA „ex vivo“
4. Mutagenität - Ames Test & in vitro Genmutation an Säugerzellen
5. Akute Toxizität, oral, inhalativ, dermal - ATC & Zytotoxizität
6. Toxizität bei wiederholter Verabreichung - 28 Tage Test
7. Reproduktionstoxizität - Screening (OECD 421) & Embryotox (EST ??)
9. Toxikokinetik

# Alternative Testverfahren und intelligente Teststrategien

## BfR Position 4

Die im BfR entwickelte inhalative ATC-Methode ist möglichst bald in OECD- und EU-Testrichtlinien verbindlich umzusetzen. Durch den Einsatz der ATC-Methode werden die Tierzahlen reduziert.

**Startdosis: 25 mg/kg b.w.**



### **BfR Position 5**

Daten aus *in vitro*-Zytotoxizitätstests können zur Abschätzung der akuten oralen Toxizität eingesetzt werden.

ATLA 31, 89–198, 2003

89

## **The Registry of Cytotoxicity: Toxicity Testing in Cell Cultures to Predict Acute Toxicity (LD50) and to Reduce Testing in Animals<sup>1</sup>**

**Willi Halle**

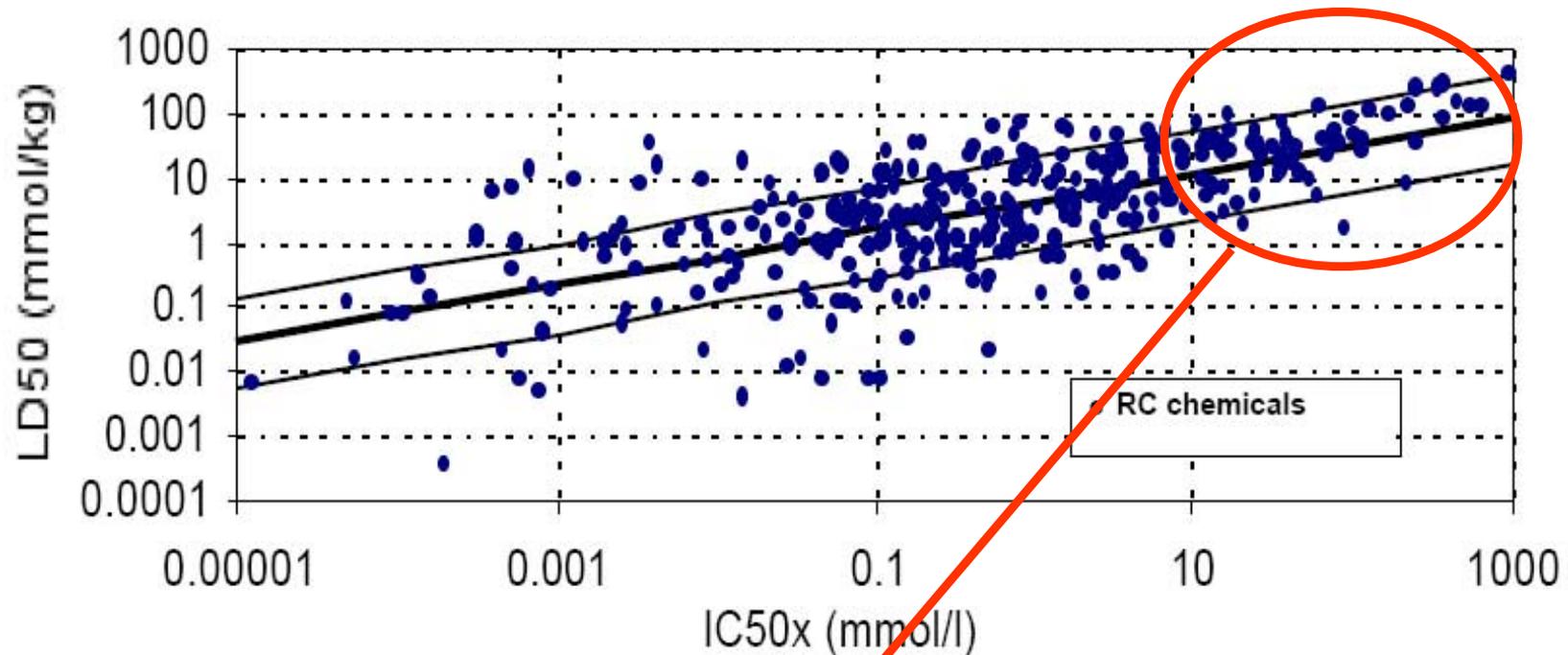
*c/o ZEBET at the BfR, Diedersdorfer Weg 1, 12277 Berlin, Germany*

**Translated by Marlies Halder,<sup>2</sup> Andrew Worth,<sup>2,3</sup> and Elke Genschow<sup>4</sup>**

*<sup>2</sup>European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM), Institute for Health & Consumer Protection, European Commission Joint Research Centre, 21020 Ispra (VA), Italy; <sup>4</sup>ZEBET at the BfR, Diedersdorfer Weg 1, 12277 Berlin, Germany*

## BfR Position 5

Daten aus *in vitro*-Zytotoxizitätstests können zur Abschätzung der akuten oralen Toxizität eingesetzt werden.



Toxizität von Neustoffen	
LD <sub>50</sub> [mg/kg]	chemicals [%]
≤ 25	0
> 25 - 200	3.1
>200 - 2000	21.1
>2000	75.8

In diesem Bereich liegen ca. 97% aller Industriechemikalien

Vorhersagemodell:  
 $\log(LD_{50}) = 0.435 \times \log(IC_{50x}) + 0.625$

## BfR Position 6

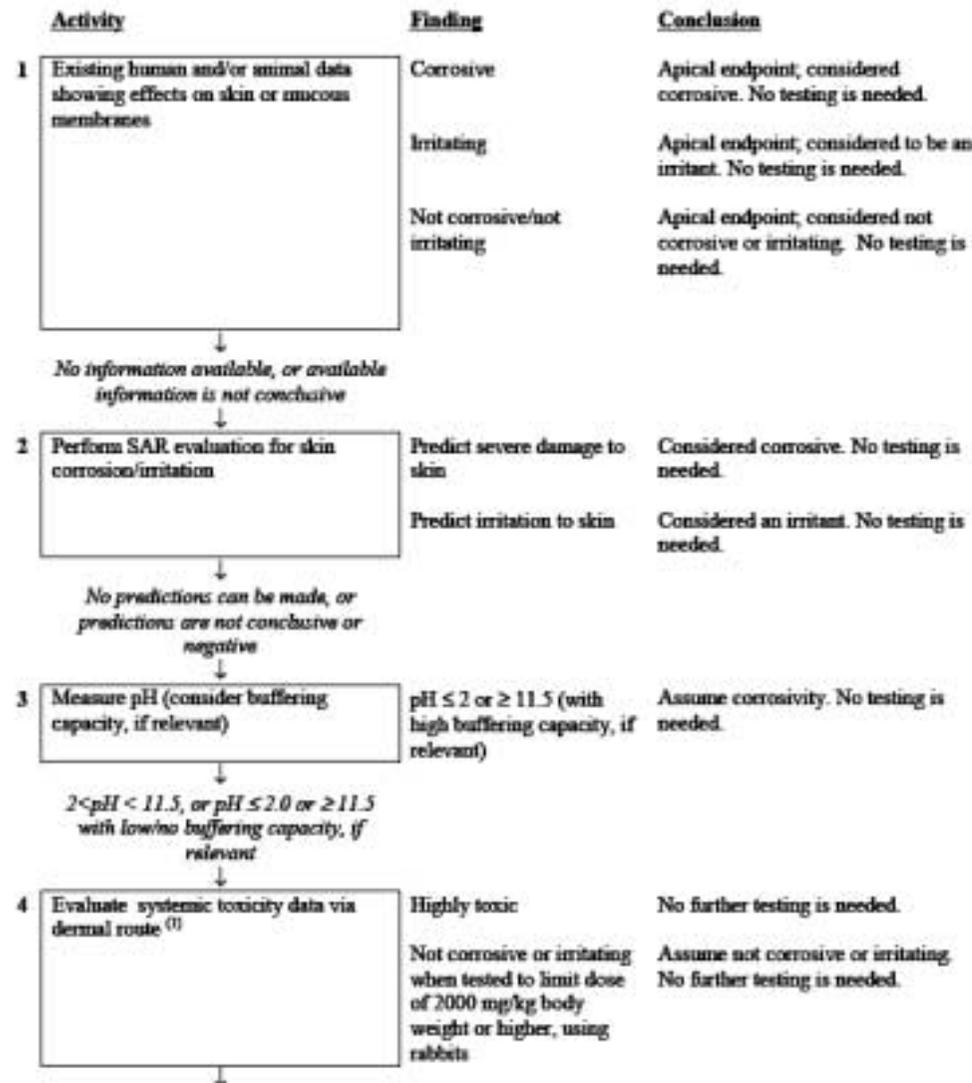
Vorhandene *in vitro*-Methoden zur Prüfung auf Haut- und Augenschädigungen sind einzusetzen. Zusammen mit Aussagen der im BfR entwickelten Expertensysteme DSS und SICRET können diese Tierversuche ersetzt werden.

### 1. Daten vom Menschen und aus Tierversuchen

### 2. Struktur-Wirkungs-Beziehungen

### 3. pH und Alkalireserve

### 4. Daten von dermalen Toxizitätsprüfungen



## BfR Position 6

Vorhandene *in vitro*-Methoden zur Prüfung auf Haut- und Augenschädigungen sind einzusetzen. Zusammen mit Aussagen der im BfR entwickelten Expertensysteme DSS und SICRET können diese Tierversuche ersetzt werden.

**Verfügbar!**

EU B.40 / bis  
OECD 430  
OECD 431

**Wird derzeit  
validiert**

Federführung:

BfR

Ziel:

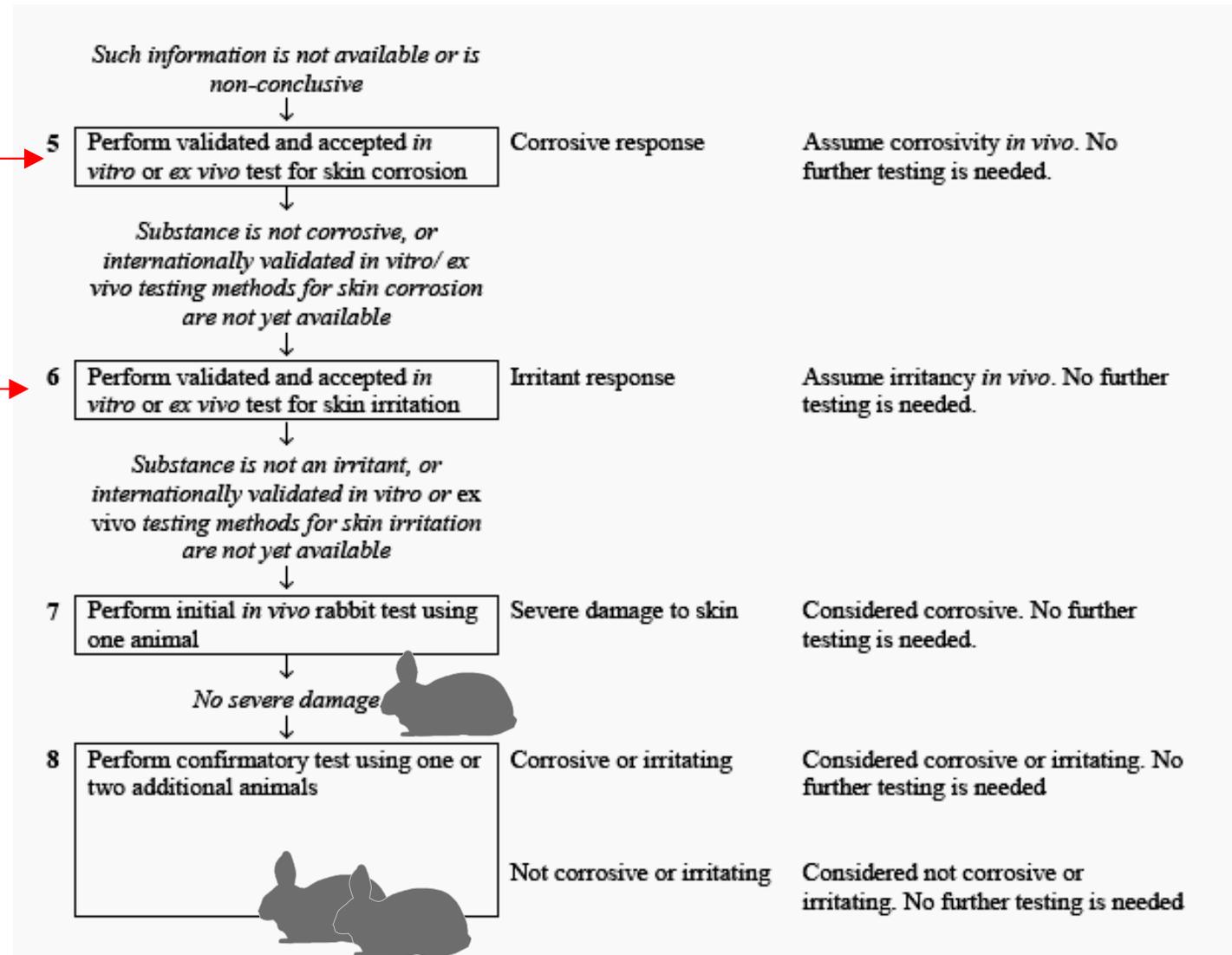
Differenzierung von  
R38 und nicht  
reizenden Stoffen

Aussichten:

positiv

für vollständigen

Tier-Ersatz



## BfR Position 6

Vorhandene *in vitro*-Methoden zur Prüfung auf Haut- und Augenschädigungen sind einzusetzen. Zusammen mit Aussagen der im BfR entwickelten Expertensysteme DSS und SICRET können diese Tierversuche ersetzt werden.

Trotz vieler aufwendiger internationaler Validierungsstudien in den Jahren 1988 - 1998:

Der Draize Test am Kaninchenauge konnte bisher noch nicht vollständig ersetzt werden.

Der **HET-CAM** und 3 weitere Alternativmethoden (**BCOP**, **ECE**, und **IRE**) werden aber in der EU behördlich zur Vorhersage starken Augereizpotentials (R41) anerkannt.



Wenn die *in vitro* Tests schwaches oder kein Reizpotential (R36 oder „nicht R36“) vorhersagen, muß der Draize Test mit 1-3 Kaninchen durchgeführt werden.



## BfR Position 6

Vorhandene *in vitro*-Methoden zur Prüfung auf Haut- und Augenschädigungen sind einzusetzen. Zusammen mit Aussagen der im BfR entwickelten Expertensysteme DSS und SICRET können diese Tierversuche ersetzt werden.

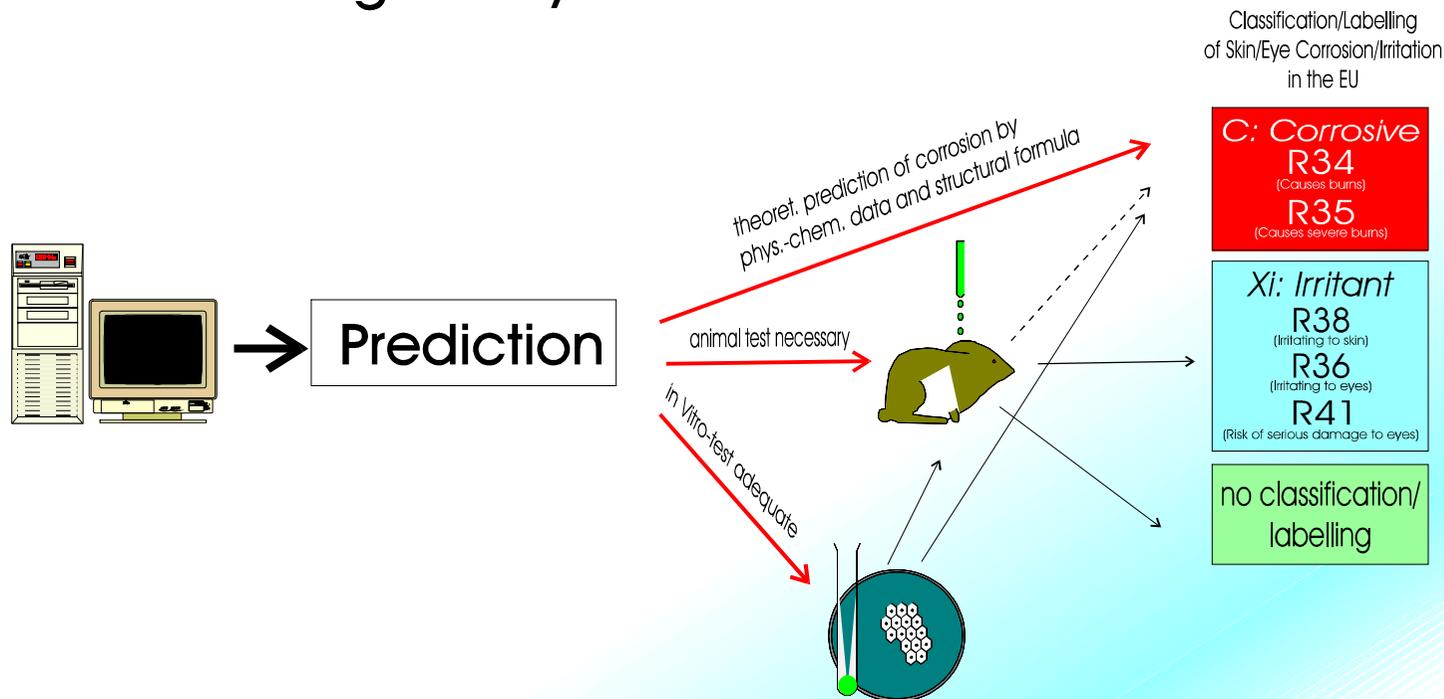
- Derzeit werden alle vorhandenen Publikationen zum HET-CAM, BCOP, ECE und IRE von den US amerikanischen Behörden (ICCVAM) und von ECVAM einem Review unterzogen (“weight of evidence approach”).
- Ziel ist dabei unter anderem, zu klären, ob sich die Verfahren, z.B. in Kombination mit (Q)SAR auch zur Einstufung nicht augenreizender Stoffe eignen.
- Das Ergebnis der Analysen ist noch nicht bekannt.
- Experten von ECVAM prognostizieren aber, daß die lokale Toxizität des Auges innerhalb von 10 Jahren tierversuchsfrei klassifiziert werden kann.

## BfR Position 6

Vorhandene *in vitro*-Methoden zur Prüfung auf Haut- und Augenschädigungen sind einzusetzen. Zusammen mit Aussagen der im BfR entwickelten Expertensysteme DSS und SICRET können diese Tierversuche ersetzt werden.

### A Decision Support System for the Introduction of Alternative Methods

#### ★ Evaluation of the Prediction according to Regulatory Risk Assessment



12

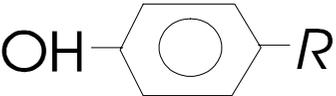
## BfR Position 6

Vorhandene *in vitro*-Methoden zur Prüfung auf Haut- und Augenschädigungen sind einzusetzen. Zusammen mit Aussagen der im BfR entwickelten Expertensysteme DSS und SICRET können diese Tierversuche ersetzt werden.

### A Decision Support System for the Introduction of Alternative Methods

#### ★ Structural Rules

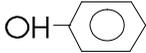
Example:

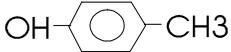
IF  R = aliph. chain

THEN "corrosive"

Explanation:

"Corrosive" according to EU-legislation\* are:

 Phenol (R34)

 Kresol (R34)

\* Directive 92/32/EEC amending for the seventh time Directive 67/548/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances. O.J. L154 5th of June 1992.

10

## BfR Position 6

Vorhandene *in vitro*-Methoden zur Prüfung auf Haut- und Augenschädigungen sind einzusetzen. Zusammen mit Aussagen der im BfR entwickelten Expertensysteme DSS und SICRET können diese Tierversuche ersetzt werden.

### A Decision Support System for the Introduction of Alternative Methods

#### ★ Exception-Rules

Example:

**IF**            molecular weight  
                 > 1200 g/mol

**THEN**        no or only marginal effects  
                 to the skin expected

Explanation:

Out of 1029 substances being tested on skin irritation, only 148 were labelled for showing effects:

MW >500	: 9 substances	( 6.1 %)	} 90.6 %
MW <400	: 67 substances	(45.3 %)	
MW <200	: 67 substances	(45.3 %)	

6

# Alternative Testverfahren und intelligente Teststrategien

## Structural alerts for the prediction of **serious damage to eyes**

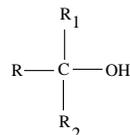
Current EU classification: X<sub>i</sub>, Irritant  
 Current EU Risk phrase: R 41, Risk of serious damage to eyes

Chemical substructures indicative of serious local lesions to eyes:

1) Aliphatic monoalcohols

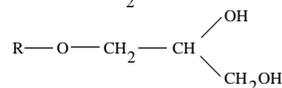
C<sub>3</sub> - C<sub>11</sub> eye damage  
 C<sub>12</sub> - C<sub>14</sub> eye irritation

R = aliphatic chain  
 R<sub>1</sub> / R<sub>2</sub> = H or aliphatic chain



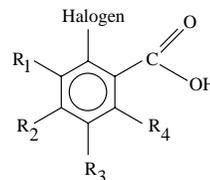
2) Aliphatic glycerol monoethers

R = aliphatic chain



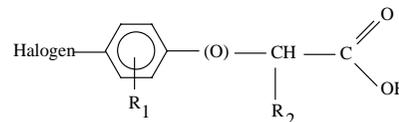
3) Derivatives of 2-halogen benzoic acids and corresponding alkali salts

R<sub>1</sub>-R<sub>4</sub> = H, aliphatic chain or Halogene



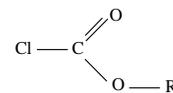
4) Halogene benzenes with substituents containing carboxylic acid groups

R<sub>1</sub> = H or Halogene  
 R<sub>2</sub> = aliphatic chain



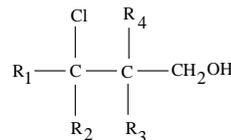
5) Aliphatic esters of chloro formic acid

R = aliphatic chain



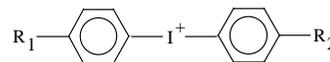
6) Chlorinated aliphatic alcohols

R<sub>1</sub> = aliphatic chain  
 R<sub>2</sub>-R<sub>4</sub> = H or aliphatic chain



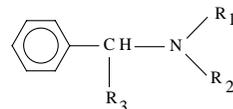
7) Diphenyl iodonium salts

R<sub>1</sub> = aliphatic chain  
 R<sub>2</sub> = any



8) Derivatives of alpha amino benzene

R<sub>1</sub> = H or aliphatic chain



# Alternative Testverfahren und intelligente Teststrategien

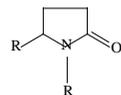
## Structural alerts for the prediction of **serious damage to eyes**

Current EU classification: X<sub>i</sub>, Irritant  
 Current EU Risk phrase: R 41, Risk of serious damage to eyes

Chemical substructures indicative of serious local lesions to eyes:

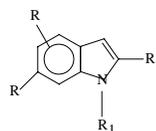
9) Pyrrolidones

R = H or aliphatic chain



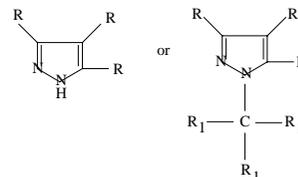
10) Substituted indoles

R = H or OH  
 R<sub>1</sub> = H or aliphatic ketone  
 R<sub>2</sub> = any



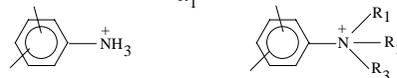
11) Substituted pyrazoles

R = H, NH<sub>2</sub> or aliphatic chain  
 R<sub>1</sub> = any

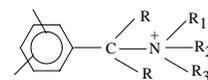


12) Aromatic ammonium salts

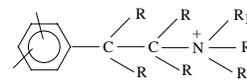
(most of them cause eye irritation to be labelled R36 or R41)



R / R<sub>3</sub> = any; if containing halogene, thio- or sulfo groups then R41  
 R<sub>1</sub> / R<sub>2</sub> = H or aliphatic chain

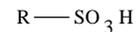


Attention: many aromatic ammonium salts are named and designed as the "hydrochloride" of an amino compound



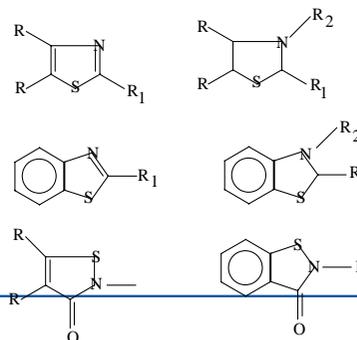
13) Organic sulfonic acids

R = any (aliphatic or aryl rest)



14) Thiazoles and thiazolidines

R = any  
 R<sub>1</sub> = H or -C-any  
 R<sub>2</sub> = H or aliphatic chain



## Physico-chemical limit values (DSS) for the absence of severely skin and eye irritating potential

### Rules appropriate for all groups of chemicals:

Basis: Evaluation of data of 1627 chemicals with purity  $\geq$  95%

Attention: Rules are valid exclusively for the Risk phrases mentioned within this specific "exclusion rule". This is due to the fact that acute local tissue lesions called "irritation" or "corrosion" and specified by the respective R-phrase of the EU are in reality based on a great variety of totally different biochemical reactions (depending on the chemical reactivity of the molecule which contacts the biological medium or structure first).

IF melting point  $> 200^{\circ}\text{C}$  THEN NOT (skin corrosion R34 or R35)  
(is true for 245/252 chemicals tested = 97%)  
(7 skin corrosive substances are organic salts which release strong inorganic acids or bases when getting in contact with aqueous substrates/organic media)

IF  $\log P_{ow} > 9$  THEN NOT (lesions R34,R35,R36 or R41)  
(is true for 32/32 chemicals tested = 100%)

IF  $\log P_{ow} < -3.1$  THEN NOT (skin corrosion R34 or R35)  
(is true for 53/53 chemicals tested) = 100%

IF lipid solubility  $< 0.01$  g/kg THEN NOT (skin corrosion R34 or R35)  
(is true for 58/58 chemicals tested = 100%)

IF aqueous solubility  $< 0.00002$  g/l THEN NOT (eye irritation R41)  
(is true for 109/109 chemicals tested = 100%)

IF aqueous solubility  $< 0.000005$  g/l THEN NOT (eye irritation R36)  
(is true for 38/38 chemicals tested = 100%)

IF molecular weight  $> 650$  g/Mol THEN NOT (eye irritation R36)  
(is true for 139/139 chemicals tested = 100%)

**Attention:**  
chemicals with molecular weight  $> 650$  g/Mol may elicit severe tissue damage resulting in local corrosion!

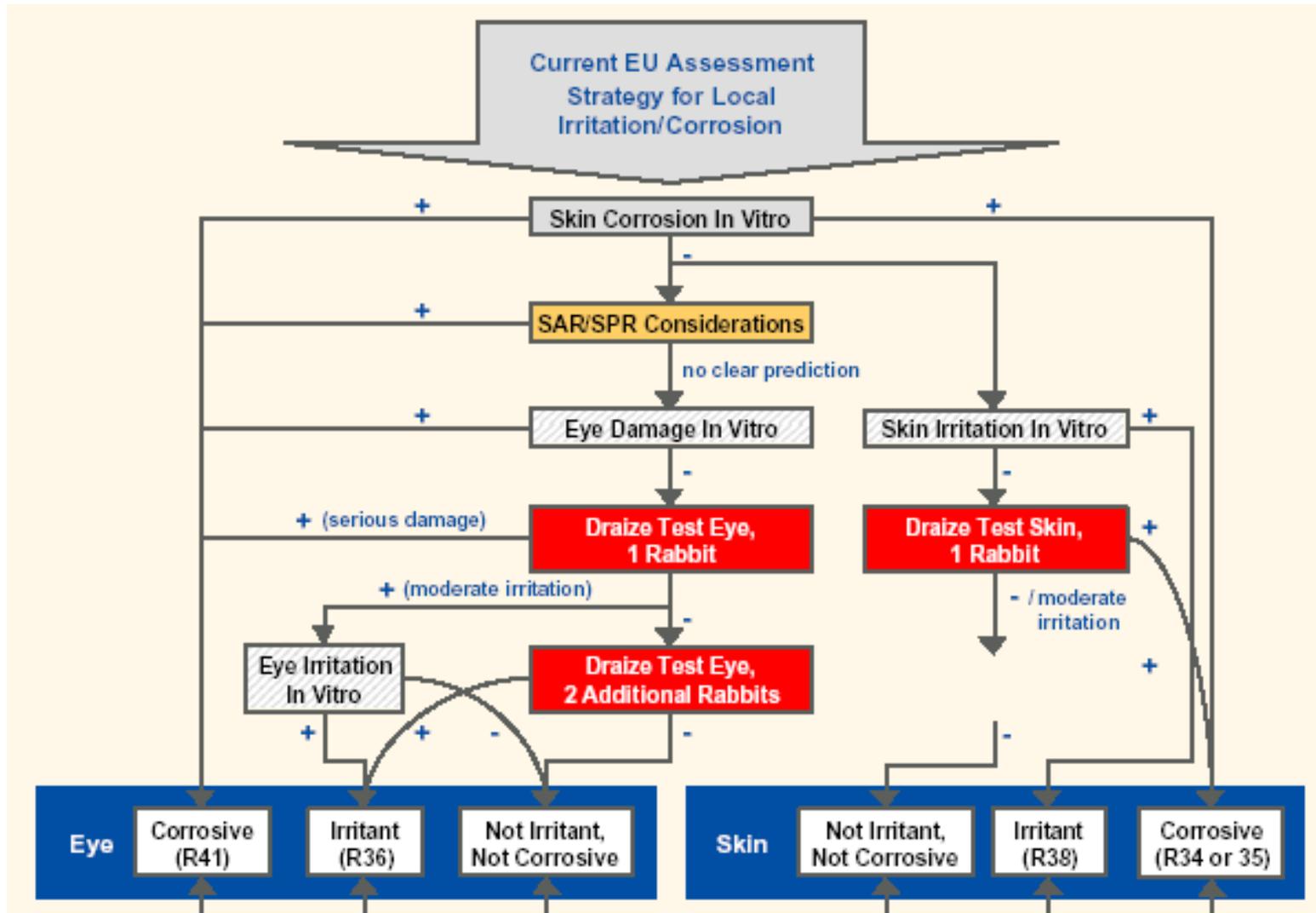
**Physico-chemical limit values (DSS) for the prediction of the  
absence of severely skin and eye irritating potential**

**Specific rules for chemicals with empirical formula  $C_xH_yO_z$ :**

**Basis: Evaluation of data of 307 chemicals with purity  $\geq 95\%$**

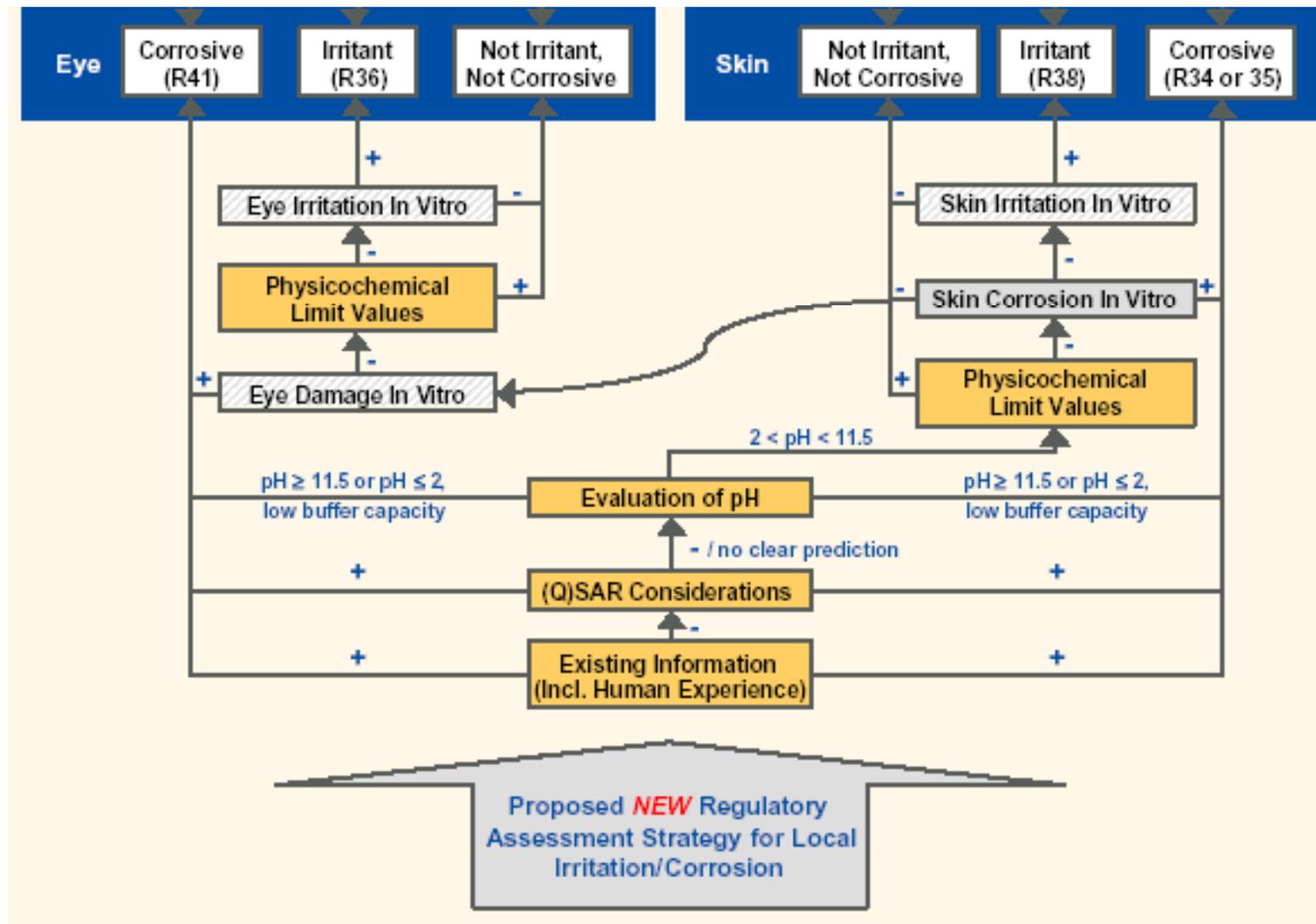
- IF melting point  $> 55^\circ\text{C}$  THEN NOT (skin corrosion R34 or R35)  
(is true for 104/105 chemicals tested = **100%**)  
(1 corrosive substance is an organic Lithium salt which releases LiOH when getting  
in contact with aqueous substrates/organic media)**
- IF molecular weight  $> 380$  g/Mol THEN NOT (lesions R34,R35,R36 or R41)  
(is true for 58/58 chemicals tested = **100%**)**
- IF aqueous solubility  $< 0.0001$  g/Mol THEN NOT (lesions R34,R35,R36 or R41)  
(is true for 40/40 chemicals = **100%**)**
- IF aqueous solubility  $< 0.0005$  g/Mol THEN NOT (eye irritation R36 or R41)  
(is true for 77/77 chemicals = **100%**)**

# Alternative Testverfahren und intelligente Teststrategien



## Die derzeitige Bewertungsstrategie für lokale Toxizität an Haut und Auge

# Alternative Testverfahren und intelligente Teststrategien



Die vom BfR vorgeschlagene integrierte, tierversuchsfreie Bewertungsstrategie für lokale Toxizität an Haut und Auge

### **BfR Position 7**

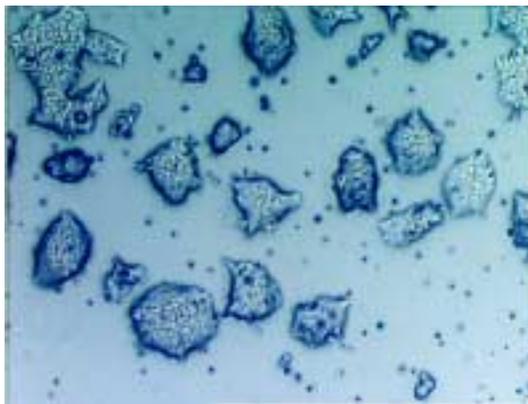
Der Fortschritt der im Rahmen der 7. Änderungsrichtlinie der EU-Kosmetikverordnung (RL 76/768/EWG) für den Bereich der Sicherheitstoxikologie von Kosmetikinhaltsstoffen entwickelten *in vitro*-Methoden zur Vorhersage hautsensibilisierender Eigenschaften sind für REACH nutzbar zu machen.

1. Reiz- und Ätzwirkung an den Haut - *in vitro*
2. Augenreizung - *in vitro*
3. Sensibilisierung an der Haut - LLNA „*ex vivo*“
4. Mutagenität - Ames Test
5. Aquatische Toxizität - Daphnien

### Position 8

Tierversuchsfreie Prüfmethode für die Reproduktionstoxizität wurden u.a. im BfR entwickelt. Forschung und Validierung werden in einem Großprojekt der EU weitergeführt. Hierdurch können in absehbarer Zeit Tierversuche, die hohe Tierzahlen erfordern, eingeschränkt oder ersetzt werden können.

### Der Embryonale Stammzell Test (EST)



**Day 0:**  
undifferentiated D3-  
stem cells

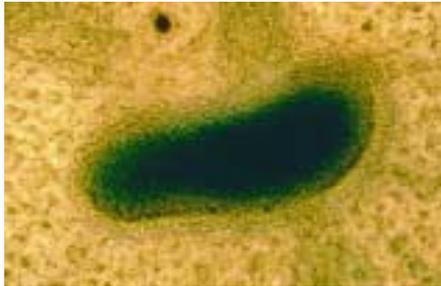


**Day 3-5:**  
in vitro differentiation  
„embryoid body“ formation

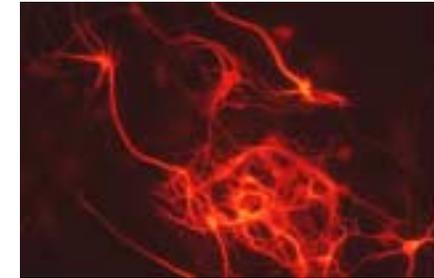


**Day 5-10:**  
in vitro differentiation  
microscopic analysis of  
contracting cardiomyocytes

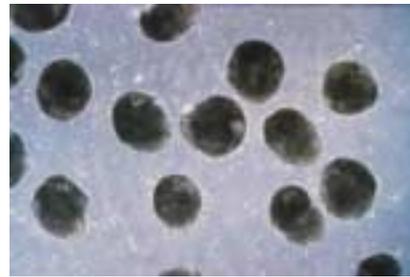
# Differenzierung von ES-Zellen in spezifische Gewebe



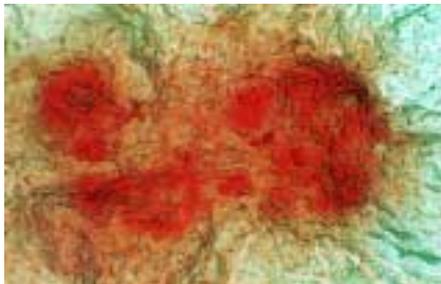
Knorpelzellen



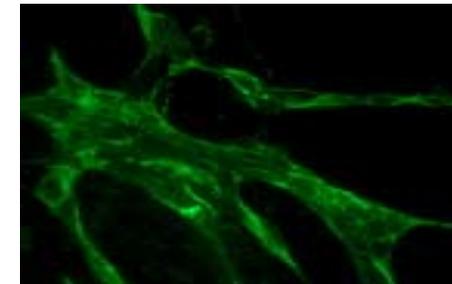
Nervenzellen



Embryonalkörper



Knochenzellen



Endothelzellen

## Position 8

Tierversuchsfreie Prüfmethode für die Reproduktionstoxizität wurden u.a. im BfR entwickelt. Forschung und Validierung werden in einem Großprojekt der EU weitergeführt. Hierdurch können in absehbarer Zeit Tierversuche, die hohe Tierzahlen erfordern, eingeschränkt oder ersetzt werden können.

ATLA 30, 151–176, 2002

151

# The ECVAM International Validation Study on *In Vitro* Embryotoxicity Tests: Results of the Definitive Phase and Evaluation of Prediction Models

Elke Genschow,<sup>1</sup> Horst Spielmann,<sup>2</sup> Gabriele Scholz,<sup>2</sup> Andrea Seiler,<sup>2</sup> Nigel Brown,<sup>3</sup> Aldert Piersma,<sup>4</sup> Madeleine Brady,<sup>5</sup> Nicole Cleemann,<sup>6,7</sup> Hannele Huuskonen,<sup>8</sup> Françoise Paillard,<sup>9</sup> Susanne Bremer<sup>10</sup> and Klaus Becker<sup>11</sup>

<sup>1</sup>Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine (BgVV), Berlin, Germany; <sup>2</sup>ZEBET, BgVV, Berlin, Germany; <sup>3</sup>St George's Hospital Medical School, University of London, UK; <sup>4</sup>National Institute of Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands; <sup>5</sup>Syngenta CTL, Macclesfield, UK; <sup>6</sup>Novartis Pharma AG; <sup>8</sup>National Public Health Institute (KTL Finland), Kuopio, Finland; <sup>9</sup>Synthelabo Recherche, Gargenville, France; <sup>10</sup>ECVAM, JRC Institute for Health and Consumer Protection, Ispra (VA), Italy; <sup>11</sup>Schering AG, Berlin, Germany

## Position 8

Tierversuchsfreie Prüfmethode für die Reproduktionstoxizität wurden u.a. im BfR entwickelt. Forschung und Validierung werden in einem Großprojekt der EU weitergeführt. Hierdurch können in absehbarer Zeit Tierversuche, die hohe Tierzahlen erfordern, eingeschränkt oder ersetzt werden können.

ATLA 32, 209-244, 2004

209

# Validation of the Embryonic Stem Cell Test in the International ECVAM Validation Study on Three *In Vitro* Embryotoxicity Tests

Elke Genschow,<sup>1</sup> Horst Spielmann,<sup>2</sup> Gabriele Scholz,<sup>2,3</sup> Ingeborg Pohl,<sup>2</sup> Andrea Seiler,<sup>2</sup> Nicole Clemann,<sup>4,5</sup> Susanne Bremer<sup>6</sup> and Klaus Becker<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Federal Institute for Risk Assessment (BfR), Berlin, Germany; <sup>2</sup>Centre for Documentation and Evaluation of Alternative Methods to Animal Experiments (ZEBET) at the BfR, Berlin, Germany; <sup>4</sup>Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland; <sup>6</sup>European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM), Ispra, Italy; <sup>7</sup>Schering AG, Berlin, Germany

## Zusammenfassung

- Die bereits jetzt oder in naher Zukunft einsetzbaren alternativen Prüfverfahren liegen im Bereich der akuten-systemischen und akuten-lokalen Toxizität.
- Alternative Verfahren liefern andere Antworten, als Tierversuche. Sie können rascher und billiger durchgeführt werden.
- Validierungsstudien haben das Ziel, den Arbeitsschutz und gesundheitlichen Verbraucherschutz mit den neuen tierversuchsfreien Methoden unverändert sicherzustellen.
- Im 6. Und 7. Rahmenprogramm der EU Forschungsförderung müssen erhebliche Mittel zur Weiterentwicklung und Validierung von alternativen Testmethoden zur Verfügung gestellt werden.

## Organising Committee

### Alternatives Congress Trust

Michael Balls, *Frame, United Kingdom*  
Alan Goldberg, *CAAT, USA*  
Andrew N. Rowan, *HSUS, USA*  
Horst Spielmann, *BfR, Germany*  
Bert van Zutphen, *Utrecht University, The Netherlands*

### International

Miroslav Cervinka, *Charles University, Czech Republic*  
Julia Fentem, *Sharnbrook, United Kingdom*  
Thomas Hartung, *ECVAM, Ispra, Italy*  
Koichi Imai, *Osaka University, Japan*  
Anne Kahru, *Tallinn, Estonia*  
Herman Koëter, *EFSA, Brussels, Belgium*  
Vera Rogiers, *ecopa, Brussels, Belgium*  
Odile de Silva, *Paris, France*

### National-Germany

Heinz Brandstetter, *GV-SOLAS, Munich*  
Bernward Garthoff, *ecopa, Monheim*  
Bernhard Polten, *German Ministry for Consumer Protection, Bonn*  
Brigitte Rusche, *Deutscher Tierschutzbund, Munich*

### Local-Berlin

Barbara Grune, *BfR, Berlin*  
Andreas Hensel, *BfR, Berlin*  
Monika Schaefer-Korting, *Free University Berlin*  
Richard Vogel, *BfR, Berlin*

## Organising Secretariat

### CTW

Congress Organisation Thomas Wiese GmbH  
Hohenzolledamm 125  
14199 Berlin  
Germany

Phone: +49 (0)30 - 85 99 62-0  
Fax: +49 (0)30 - 85 07 98 26  
e-mail: [act@ctw-congress.de](mailto:act@ctw-congress.de)  
Internet: [www.ctw-congress.de](http://www.ctw-congress.de)



# 5<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences

Patron of the 5<sup>th</sup> World Congress:  
Minister Renate Künast  
(German Federal Ministry on Consumer  
Protection, Food and Agriculture)

August 21<sup>st</sup>–25<sup>th</sup>, 2005  
Berlin, Germany

Estrel Convention Center

[www.ctw-congress.de/act2005](http://www.ctw-congress.de/act2005)



Risiken erkennen – Gesundheit schützen

VIELEN DANK  
FÜR IHRE AUFMERKSAMKEIT

Horst Spielmann

Bundesinstitut für Risikobewertung

Thielallee 88-92 • D-14195 Berlin

Tel. 0 30 - 84 12 - 2275 • Fax 0 30 - 84 12 - 2958

liebsch.zebet@bfr.bund.de • [www.bfr.bund.de](http://www.bfr.bund.de)