

Orientação e métodos alternativos e validados de ensaios de toxicidade em substituição ao uso de animais

PARÂMETRO DE TOXICIDADE	ABORDAGENS E MÉTODOS DE ENSAIOS	RECOMENDAÇÕES E MÉTODOS PADRÃO		
		OCDE	OUTRAS AUTORIDADES	
IRRITAÇÃO E LESÕES OCULARES GRAVES	Abordagem integrada para testes e avaliação (IATA) para irritação e lesões oculares graves	Documento de orientação (Guidance Document – GD) da OCDE 263, publicado em 2017		
	Estratégica de avaliação de toxicidade química	–	Orientação da Agência Europeia dos Produtos Químicos (ECHA), Capítulo R.7a., R.7.2.8–R.7.2.11 (2017)	
	Uso de um enquadramento de teste utilizando o microfisiômetro Cytosensor®, o método de ensaio de opacidade e permeabilidade da córnea bovina (BCOP) e o modelo EpiOcular™ para classificação de produtos pesticidas	–	Política da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (2015)	
	Método de ensaio com epitélio reconstruído de córnea humana (RhCE)	EpiOcular™ (MatTek, EUA)	Diretriz de teste (test guideline – TG) da OCDE 492, revisada em 2019	Declaração ESAC (2014); declarações JaCVAM (2017 e 2018); diretriz KoCVAM (2016)
		SkinEthic™ (L’Oréal, França)		
		LabCyte (J-TEC, Japão)		
		MCTT HCE™ (Biosolution Co, Ltd, Coreia do Sul)		
	Método de ensaio para detecção de vazamento marcado com fluoresceína	TG da OCDE 460, revisada em 2017	Declaração ESAC (2009); declaração JaCVAM (2013)	
Método de ensaio <i>in vitro</i> de exposição de curta duração (STE)	TG da OCDE 491, revisada em 2018	Relatório ICCVAM (2013); declaração JaCVAM (2016); diretriz KoCVAM (2017)		
Método de ensaio de irritação ocular (EIT) utilizando membrana de colágeno Vitrigel	TG da OCDE 494, publicada em 2019	–		

PARÂMETRO DE TOXICIDADE	ABORDAGENS E MÉTODOS DE ENSAIOS		RECOMENDAÇÕES E MÉTODOS PADRÃO	
			OCDE	OUTRAS AUTORIDADES
	Método de ensaio macromolecular <i>in vitro</i>		TG da OCDE 496, publicada em 2019	–
	Método de ensaio de opacidade e permeabilidade da córnea bovina (BCOP)		TG da OCDE 437, revisada em 2017	Relatório ICCVAM (2006); declaração ESAC (2007); declarações JaCVAM (2009 e 2014); diretriz KoCVAM (2011)
	Método de ensaio em olho enucleado de galinha (ICE)		TG da OCDE 438, revisada em 2018	Relatório ICCVAM (2006); declaração ESAC (2007); declaração JaCVAM (2009)
	Ensaio de microfisiômetro Cytosensor® (CM)		–	Declaração ESAC (2009); relatório ICCVAM (2010)
CORROSÃO E IRRITAÇÃO CUTÂNEA	Abordagem integrada para testes e avaliação (IATA) para corrosão e irritação cutânea		GD da OCDE 203, publicado em 2014	–
	Estratégia de avaliação de toxicidade química para corrosão e irritação cutânea		–	Orientação da Agência Europeia dos Produtos Químicos (ECHA) Capítulo R.7a., R.7.2 (2017)
	Ensaio de barreira à membrana <i>in vitro</i> Corrositex para corrosão cutânea		TG da OCDE 435, revisada em 2015	Relatório ICCVAM (1999); declaração ESAC (2000); declaração JaCVAM (2017)
	Corrosão cutânea <i>in vitro</i> : ensaio de epiderme humana reconstruída (RhE)	EpiSkin™ (L'Oréal, França)	TG da OCDE 431, revisada em 2019	Relatório ICCVAM (2002); declaração ESAC (1998); declaração JaCVAM (2017)
		EpiDerm™ (MatTek, EUA)		Relatório ICCVAM (2002); declaração ESAC (2000); declaração JaCVAM (2017)
		SkinEthic™ (L'Oréal, França)		Declaração ESAC (2006); declaração JaCVAM (2017)
		epiCS® (Phenion, Alemanha)		Declaração ESAC (2009); declaração JaCVAM (2017)
LabCyte EPI-MODEL24 SCT (J-TEC, Japão)		–		

PARÂMETRO DE TOXICIDADE	ABORDAGENS E MÉTODOS DE ENSAIOS		RECOMENDAÇÕES E MÉTODOS PADRÃO	
			OCDE	OUTRAS AUTORIDADES
		Vitrolife-Skin™	–	Declaração JaCVAM (2008)
	Irritação cutânea <i>in vitro</i> : ensaio de epiderme humana reconstruída (RhE)	EpiSkin™ (L'Oréal, França)	TG da OCDE 439, revisada em 2019	Declaração ESAC (2007); declaração JaCVAM (2010); diretriz KoCVAM (2014)
		EpiDerm™ (MatTek, EUA)		Declaração ESAC (2008); declaração JaCVAM (2013); diretriz KoCVAM (2017)
		SkinEthic™ (L'Oréal, França)		Declaração ESAC (2008); declaração JaCVAM (2013); diretriz KoCVAM (2017)
		LabCyte EPI-MODEL24 SIT (J-TEC, Japão)		Declaração JaCVAM (2013); diretriz KoCVAM (2017)
		Skin+® (Sterlab, França)		–
		epiCS® (Phenion, Alemanha)		–
SENSIBILIZAÇÃO CUTÂNEA	Via de efeito adverso (AOP) para sensibilização cutânea		GD da OCDE 168 (Parte 1 , Parte 2), publicado em 2012	–
	Orientação sobre relatórios de abordagens definidas e fontes de informação individuais a serem utilizados em Abordagens integradas para testes e avaliação (IATA)		GD da OCDE 256 (Anexo I , Anexo II), publicado em 2016	–
	Uso de abordagens alternativas para sensibilização cutânea em substituição aos testes em animais		–	Política da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (2018)
	Estratégica de avaliação de toxicidade química		–	Orientação da Agência Europeia dos Produtos Químicos (ECHA) Capítulo R.7a., R.7.3.4–R.7.3.7 (2017)
	Caixa de ferramentas QSAR da OCDE	Implementação de workflow AOP para sensibilização cutânea	Manual de treinamento da OCDE, publicado em 2017	–

PARÂMETRO DE TOXICIDADE	ABORDAGENS E MÉTODOS DE ENSAIOS		RECOMENDAÇÕES E MÉTODOS PADRÃO	
			OCDE	OUTRAS AUTORIDADES
		Exemplo para predição de sensibilização cutânea de uma mistura Exemplo de predição do potencial de sensibilização cutânea de uma substância química por interpolação baseada em abordagem análoga		
	Ensaio <i>in chemico</i> que abordam um evento chave da Via de efeito adverso (AOP) na ligação covalente a proteínas	Ensaio de ligação direta sobre a reatividade peptídica (DPRA)	TG da OCDE 442C, revisada em 2019	Recomendação EURL ECVAM (2013); declaração JaCVAM (2015); diretriz KoCVAM (2016)
		Ensaio de reatividade química de aminoácidos derivados (ADRA)		–
	Método de teste da luciferase em ARE-Nrf2	KeratinoSens™	TG da OCDE 442D, revisada em 2018	Recomendação EURL ECVAM (2014); declaração JaCVAM (2015); diretriz KoCVAM (2017)
		LuSens		–
	Ensaio <i>in vitro</i> que abordam um evento chave da Via de efeito adverso (AOP) na ativação de células dendríticas	Teste de ativação da linha celular humana (h-CLAT)	TG da OCDE 442E, revisada em 2018	Recomendação EURL ECVAM (2015); declaração JaCVAM (2017); diretriz KoCVAM (2017)
		Ensaio IL-8 Luc		–

PARÂMETRO DE TOXICIDADE	ABORDAGENS E MÉTODOS DE ENSAIOS		RECOMENDAÇÕES E MÉTODOS PADRÃO	
			OCDE	OUTRAS AUTORIDADES
		Ensaio de sensibilização cutânea U937 (U-SENS™)		
FOTOTOXICIDADE	O ensaio de fototoxicidade da captação do vermelho neutro (NRU) 3T3		TG da OCDE 432, revisada em 2019	Declaração ESAC (1997); ICH S10; diretriz KoCVAM (2007)
	Ensaio de espécies reativas de oxigênio (ERO)		TG da OCDE 495, publicada em 2019	Declaração JaCVAM (2015); ICH S10
	Ensaio de modelos de pele humana reconstruída		–	ICH S10
ABSORÇÃO/PENETRAÇÃO CUTÂNEA	Método de difusão <i>in vitro</i>		TG da OCDE 428, publicada em 2004	Declaração JaCVAM (2014); diretriz KoCVAM (2009)
TOXICIDADE SISTÊMICA AGUDA	Orientação relativa à dispensa de testes para formulações de pesticidas		–	Orientação da Canada Pest Management Regulatory Agency (2013); orientação da Agência de Proteção Ambiental dos EUA para ensaios de toxicidade dérmica aguda (2016)
	Estratégia de substituição, redução e refinamento no uso de animais na avaliação da toxicidade sistêmica aguda em mamíferos		–	Orientação EURL ECVAM (2014)
	Conjunto Colaborativo de Modelagem de Toxicidade Aguda (CATMoS)		–	NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (Centro Interinstitucional NTP para Avaliação de Métodos Toxicológicos Alternativos) (NICEATM) (2019)
	Ensaio de citotoxicidade por captação de vermelho neutro (NRU) 3T3 para identificar substâncias que não requerem classificação		–	Recomendação EURL ECVAM (2013)

PARÂMETRO DE TOXICIDADE	ABORDAGENS E MÉTODOS DE ENSAIOS	RECOMENDAÇÕES E MÉTODOS PADRÃO	
		OCDE	OUTRAS AUTORIDADES
GENOTOXICIDADE/MUTAGENICIDADE	Caixa de ferramentas QSAR da OCDE: exemplo de avaliação da mutagenicidade pelo Teste de Ames utilizando um método comparativo por interpolação	Manual de treinamento da OCDE, publicado em 2017	–
	Teste de micronúcleo <i>in vitro</i>	TG da OCDE 487, revisada em 2016	Declaração ESAC (2006); ICH S2(R1)
	Ensaio de mutação reversa bacteriana	TG da OCDE 471, revisada em 1997	ICH S2(R1)
	Teste de aberração cromossômica em mamíferos <i>in vitro</i>	TG da OCDE 473, revisada em 2016	ICH S2(R1)
	Teste <i>in vitro</i> de mutação genética em células de mamíferos	TG da OCDE 476, revisada em 2016	–
	Testes <i>in vitro</i> de mutação genética em células de mamíferos utilizando o gene da timidina quinase	TG da OCDE 490, revisada em 2016	ICH S2(R1)
CARCINOGENICIDADE	Ensaio de transformação celular <i>in vitro</i> (CTA)	GD da OCDE 214, publicado em 2015; GD da OCDE 231, publicado em 2016	Recomendações EURL ECVAM (2012 e 2013)
PIROGENICIDADE	Testes de ativação de monócitos <i>in vitro</i> (MAT)	–	Relatório ICCVAM (2008); declaração ESAC (2006); capítulo geral 2.6.30 da Farmacopeia europeia; orientação da Food and Drug Administration dos EUA (2012)
HEMATOTOXICIDADE	Ensaio CFU-GM	–	Declaração ESAC (2006)
TOXICIDADE REPRODUTIVA	Teste de células-tronco embrionárias (CTEH)	–	Declaração ESAC (2001)
	Ensaio de embriotoxicidade utilizando culturas de micromassas (<i>Nota: Embriões de animais são utilizados. Portanto, este ensaio deve ser realizado somente se substituir uma exigência regulamentar para um teste em animais vivos usando estágios posteriores da vida.</i>)		

PARÂMETRO DE TOXICIDADE	ABORDAGENS E MÉTODOS DE ENSAIOS	RECOMENDAÇÕES E MÉTODOS PADRÃO	
		OCDE	OUTRAS AUTORIDADES
	Ensaio de embriotoxicidade em ratos (<i>Nota:</i> Embriões de animais são utilizados. Portanto, este ensaio deve ser realizado somente se substituir uma exigência regulamentar para um teste em animais vivos usando estágios posteriores da vida.)		
TRIAGEM DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS	Ensaio de transativação estavelmente transfeccionada <i>in vitro</i> para detectar agonistas e antagonistas de receptores de estrogênio	TG da OCDE 455, revisada em 2016	Declaração JaCVAM (2016)
	Ensaio de esteroidogênese H295R	TG da OCDE 456, publicada em 2011	–
	Método do receptor de estrogênio BG1Luc	TG da OCDE 457, publicada em 2012	Declaração JaCVAM (2014)
	Ensaio de ativação transcricional de receptor de andrógeno humano estavelmente transfeccionado	TG da OCDE 458, publicada em 2016	–
	Ensaio <i>in vitro</i> de receptores recombinantes de estrogênio humano (hrER) para detectar substâncias químicas com afinidade de ligação a receptores de estrogênio	TG da OCDE 493, publicada em 2015	–
	Ensaio de desenvolvimento tireoidiano embrionário em rãs <i>Xenopus</i> (XETA) (<i>Nota:</i> Embriões de animais são utilizados. Portanto, este ensaio deve ser realizado somente se substituir uma exigência regulamentar para um teste em animais vivos usando estágios posteriores da vida.)	TG da OCDE 248, publicada em 2019	–
TOXICIDADE AQUÁTICA	Caixa de ferramentas QSAR da OCDE: exemplo de predição de toxicidade aquática aguda em peixes de mistura com componentes conhecidos	Manual de treinamento da OCDE, publicado em 2017	–
	Banco de dados EnviroTox para calcular limiares de valores	–	Health and Environmental Sciences Institute (2018)
	Ensaio de inibição de crescimento de algas e cianobactérias de água doce	TG da OCDE 201, publicada em 2011	–

PARÂMETRO DE TOXICIDADE	ABORDAGENS E MÉTODOS DE ENSAIOS	RECOMENDAÇÕES E MÉTODOS PADRÃO	
		OCDE	OUTRAS AUTORIDADES
	Teste de imobilização aguda, <i>Daphnia sp</i>	TG da OCDE 202, publicada em 2004	–
	Teste de toxicidade aguda <i>in vitro</i> de peixes usando a linha celular permanente de truta arco-íris RTgill-W1	–	Norma ISO 21115 (2019)
	Ensaio de depuração intrínseca <i>in vitro</i> usando hepatócitos de truta arco-íris criopreservados (<i>Nota</i> : Células primárias de animais são utilizadas. Portanto, este ensaio deve ser realizado somente se substituir uma exigência regulamentar para um teste em animais vivos.)	TG da OCDE 319A, publicada em 2018; GD da OCDE 280, publicado em 2018	–
	Ensaio de depuração intrínseca <i>in vitro</i> usando fração subcelular S9 de fígado de truta arco-íris (<i>Nota</i> : Células primárias de animais são utilizadas. Portanto, este ensaio deve ser realizado somente se substituir uma exigência regulamentar para um teste em animais vivos.)	TG da OCDE 319B, publicada em 2018; GD da OCDE 280, publicado em 2018	–
	Ensaio de toxicidade aguda com embriões de peixes (FET) (<i>Nota</i> : Embriões de animais são utilizados. Portanto, este ensaio deve ser realizado somente se substituir uma exigência regulamentar para um teste em animais vivos usando estágios posteriores da vida.)	TG da OCDE 236, publicada em 2013	Recomendação EURL ECVAM (2014)
TODOS OS PARÂMETROS	Orientação sobre considerações para a dispensa ou vinculação de ensaios de toxicidade aguda em mamíferos	GD da OCDE 237, publicado em 2016	–
	Orientação para a dispensa ou vinculação de ensaios de toxicidade aguda para pesticidas	–	Orientação de Health Canada (2013)
	Orientação sobre o informe de abordagens definidas a serem utilizadas em Abordagens integradas para testes e avaliação (IATA)	GD da OCDE 255, publicado em 2016	–
	Orientação sobre a validação de modelos (Q)SAR	GD da OCDE 69, publicado em 2007	–

PARÂMETRO DE TOXICIDADE	ABORDAGENS E MÉTODOS DE ENSAIOS	RECOMENDAÇÕES E MÉTODOS PADRÃO	
		OCDE	OUTRAS AUTORIDADES
	Caixa de ferramentas QSAR da OCDE: documentos de orientação e materiais de treinamento	OECD, revisado em 2018	–
	Banco de dados do Modelo QSAR	–	Mantido pelo European Commission Joint Research Centre (Centro Comum de Investigação da Comissão Europeia)
	Programas de modelagem diversos	–	Para exemplos, programas de Lhasa Limited , Leadscope , Scito Vation , e Simulations Plus
	Orientação sobre o agrupamento de substâncias químicas	GD da OCDE 194, publicado em 2014	–
	Quadro de avaliação de métodos comparativos por interpolação	–	Orientação da Agência Europeia dos Produtos Químicos (ECHA) (2017)
	Orientação sobre boas práticas de métodos <i>in vitro</i>	GD da OCDE 286, publicado em 2018	–
	Orientação para a descrição de métodos de ensaio <i>in vitro</i> sem diretrizes	GD da OCDE 211, publicado em 2014	–
	Classificação de misturas com base na toxicidade dos ingredientes	–	Orientação “Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos” das Nações Unidas (2015); programa piloto da Agência de Proteção Ambiental dos EUA

PARÂMETRO	MÉTODO OU ESTRATÉGIA DE SUBSTITUIÇÃO	APROVAÇÃO REGULATÓRIA
ENSAIOS BIOLÓGICOS	Ensaio <i>in vitro</i> de potência da vacina contra leptospirose	Métodos de ensaio suplementares (SAM) 624 , 625 , 626 , e 627 do USDA

Ensaio <i>in vitro</i> de potência da vacina contra erisipela	SAM 612 e 613 do USDA
Ensaio <i>in vitro</i> de potência da vacina contra clostridiose	SAM preliminar 220 do USDA
Ensaio <i>in vitro</i> de potência da vacina antitetânica	SAM 217 do USDA
Métodos de produção de anticorpos recombinantes <i>in vitro</i>	Ver ThePSCI.eu/antibodies
Ensaio veterinário de segurança de lotes para animais-alvo (TABST)	Pode ser dispensado após demonstração de conformidade; memorando USDA CVB 800.116
Revogação de ensaios gerais de segurança (GST)/ensaios de toxicidade anormais (ATT)	Alteração de regulamentos biológicos pelo FDA para a revogação de GST (2015); todas as monografias da Farmacopeia europeia revisadas para revogar o ATT (2017)

Para todos os parâmetros, métodos *in vitro* desenvolvidos internamente sempre devem ser utilizados.

Os pesquisadores devem empenhar todos os esforços para utilizar métodos de ensaio alternativos (não animais) disponíveis. Se tais métodos não forem aprovados pelas agências reguladoras, informações sobre métodos de redução e refinamento podem ser encontradas aqui:

- [Métodos alternativos aceitos pelo NICEATM](#)
- [EURL ECVAM Tracking System for Alternative Methods Towards Regulatory Acceptance](#) (Sistema de rastreamento EURL ECVAM para métodos alternativos para a aprovação regulatória)

Métodos adicionais para a redução e substituição do uso de animais estão disponíveis nos seguintes bancos de dados:

- [EURL ECVAM Database Service on Alternative Methods to Animal Experimentation](#) (Serviço do banco de dados EURL ECVAM sobre métodos alternativos a experimentos com animais)
- [EURL ECVAM Tracking System for Alternative Methods Towards Regulatory Acceptance](#) (Sistema de rastreamento EURL ECVAM para métodos alternativos para a aprovação regulatória)

Informações detalhadas sobre os documentos de orientação e métodos de ensaios descritos neste documento podem ser encontradas nos seguintes websites:

- [OECD Guidelines for the Testing of Chemicals](#) (Diretrizes da OCDE para ensaios de produtos químicos)
- [OECD Adopted Guidance and Review Documents, Series on Testing and Assessment](#) (Documentos de orientação e revisão adotados pela OCDE, Série sobre ensaios e avaliação)
- [EURL ECVAM Validated Test Methods](#) (Métodos de ensaio validados por EURL ECVAM)
- [Métodos alternativos aceitos pelo NICEATM](#)
- [ICCVAM Test Method Evaluations](#) (Avaliações de métodos de ensaio de ICCVAM)
- [USDA Listing of Supplemental Assay Methods](#) (Lista de métodos de ensaio suplementares do USDA)