



virtual
libre y gratuito
requiere inscripción

CAPACITACIONES ICCAS

SEMINARIO

Ciencias Regulatorias: Métodos alternativos para productos formulados

DESDE EL MARTES 4 DE OCTUBRE
HASTA EL JUEVES 20 DE OCTUBRE

Más información:
info@iccas.org.ar
www.iccas.org.ar

CON EL APOYO DE:





Métodos Alternativos

Toxicidad Aguda Oral (OECD 420, 423 y 425 - guía 237)

Toxicidad Aguda Dérmica (OECD 402 y guía 237)

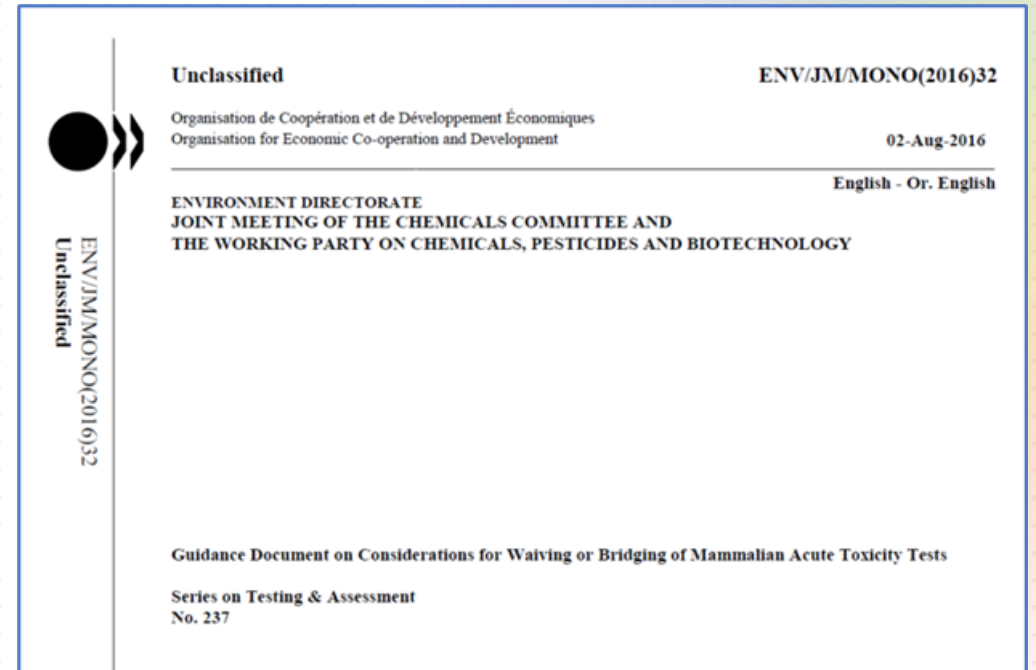
Toxicidad Aguda Inhalatoria (OECD 403 y guía 237)



GUÍA 237 DE LA OECD

Proporciona aclaraciones sobre los siguientes enfoques:

- ✓ Reducir el uso de animales considerando la posibilidad de no conducir un estudio según criterios científicos.
- ✓ Reducir o eliminar las pruebas con animales utilizando la información existente sobre peligros; incluyendo el uso de información sobre peligros de sustancias similares para caracterizar el peligro de otras, el uso de métodos de cálculo reconocidos y conceptos de extrapolación.

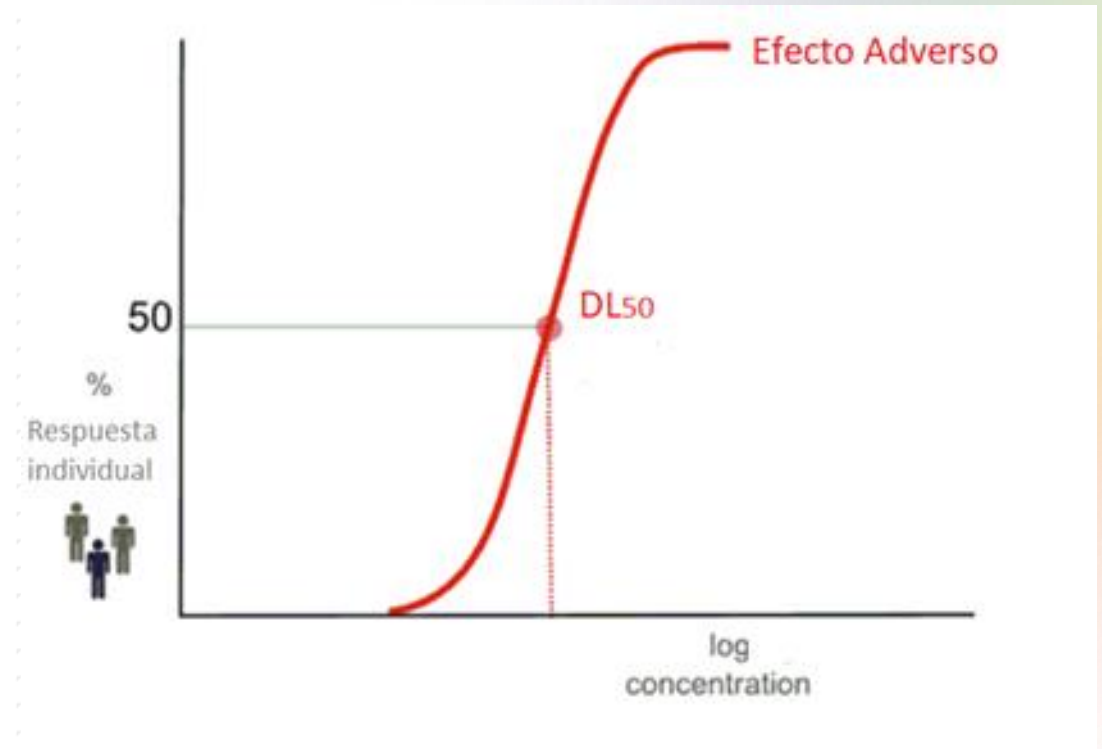




TOXICIDAD AGUDA

Cualquier efecto tóxico producido en un período corto después de una exposición, generalmente de 24 a 96 horas.

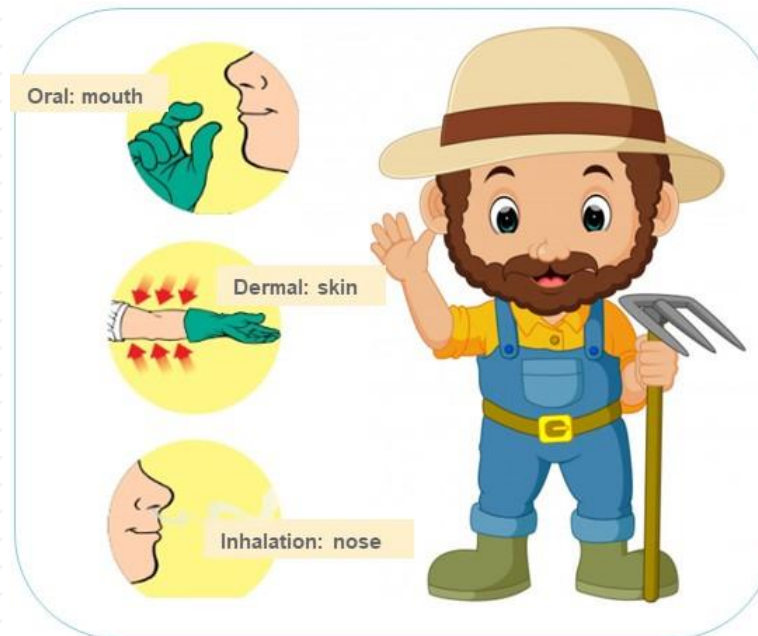
Permite identificar el órgano o sistema afectado y conocer la dosis letal 50 (DL_{50}), es decir, la dosis necesaria para causar la muerte del 50% de los animales en un experimento.





CONCENTRACIONES LETALES Y EFECTOS SISTÉMICOS

- Estudio de toxicidad aguda oral (DL₅₀)
- Estudio de toxicidad aguda cutánea (DL₅₀)
- Estudio de toxicidad aguda por inhalación (CL₅₀)





Toxicidad aguda oral



TOXICIDAD AGUDA ORAL

3 guías sustituyeron a la antigua OECD 401

- Modelos in vivo que reducen el número de animales utilizados

OECD 420 - Procedimiento de dosis fija

OECD 423 - Método por clase de toxicidad aguda

OECD 425 - Procedimiento ascendente y descendente





TOXICIDAD AGUDA ORAL

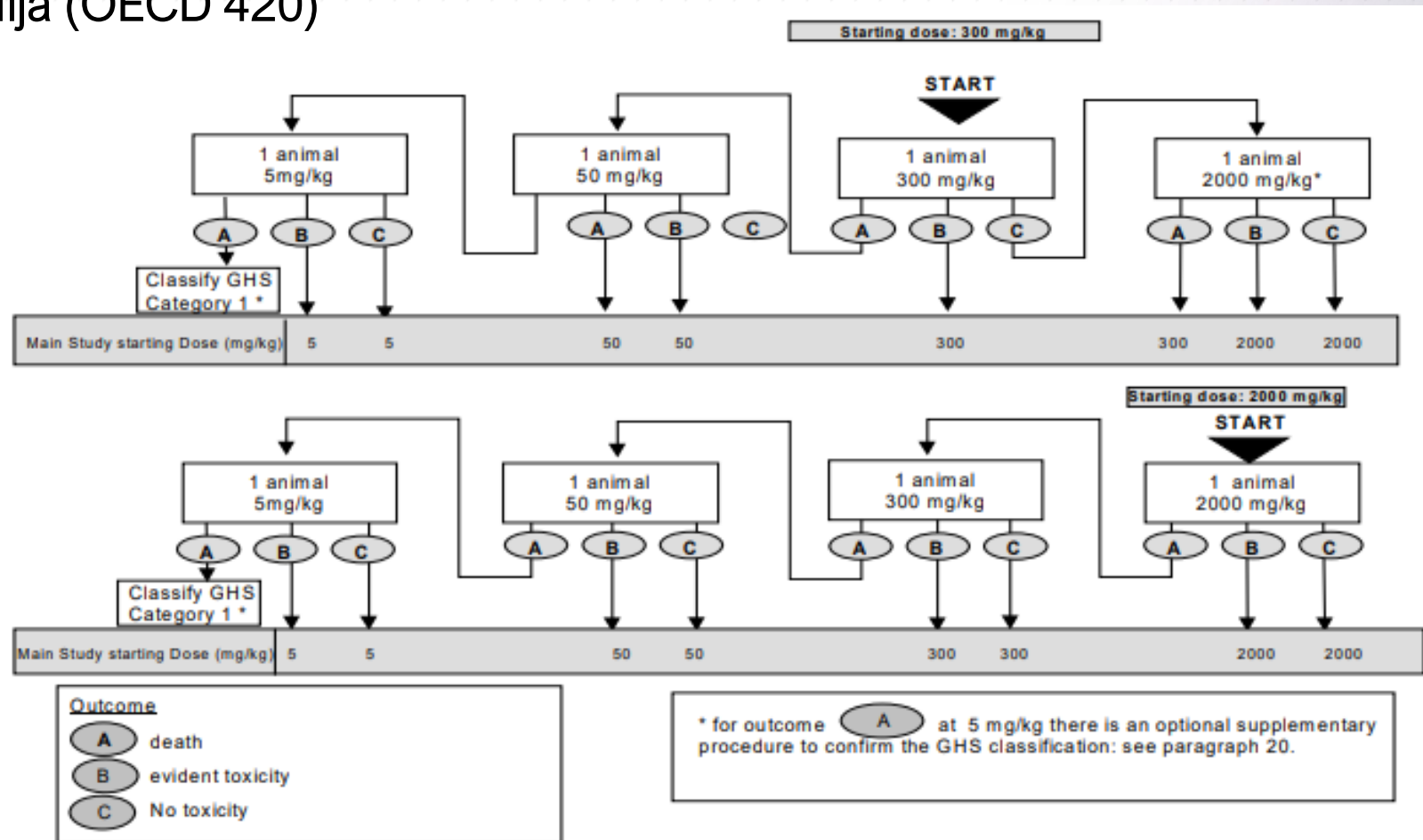
Guía	Promedio de No. de animales/prueba
OECD 401	10-30
OECD 420 Procedimiento de dosis fija	6-12
OECD 423 Método por clase de toxicidad aguda	5-12
OECD 425 Procedimiento ascendente y descendente	6-12

Dosis máxima – 2000mg/Kg

- **Sistema Globalmente Armonizado (SGA):** A la luz de las consideraciones relativas al bienestar de los animales, los ensayos en animales bajo la categoría 5 SGA (2000-5000mg/kg) se desaconsejan y solo deben tenerse en cuenta cuando exista una gran probabilidad de que los resultados de tales ensayos tengan una relevancia directa para la protección de la salud humana.
- **OECD 237 y guías agudas orales:** Reconociendo la necesidad de proteger el bienestar de los animales, se desaconseja la realización de ensayos en animales bajo la categoría 5 SGA (2000-5000mg/kg) y solo debe tenerse en cuenta cuando exista una gran probabilidad de que los resultados de tales ensayos tengan una pertinencia directa para la protección de la salud humana.

GUÍAS ALTERNATIVAS VALIDADAS: TOXICIDAD AGUDA ORAL

Método por dosis fija (OECD 420)



GUÍAS ALTERNATIVAS VALIDADAS: TOXICIDAD AGUDA ORAL

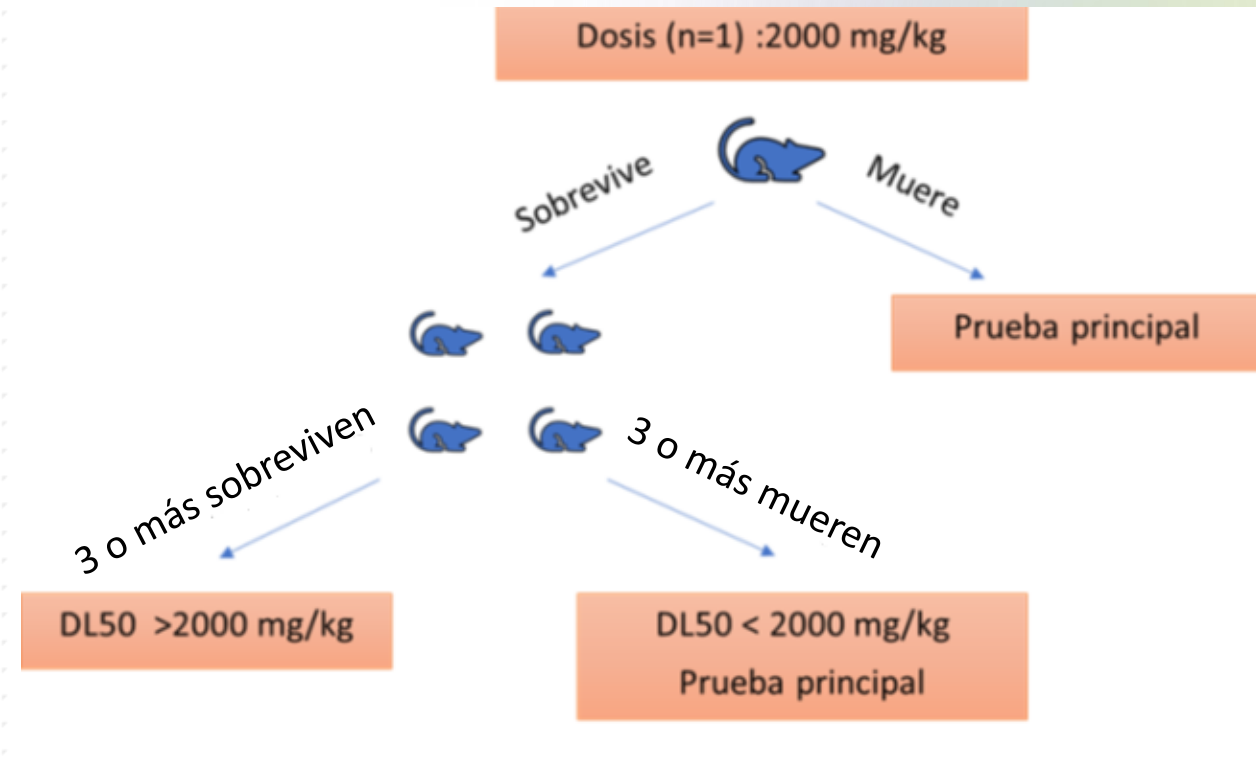
Procedimiento ascendente y descendente (*Up-and-Down*, OECD 425)

Ratas (hembras), 1 animal por etapa

La DL_{50} es calculada utilizando el método de máxima verosimilitud

Dos tipos de ensayo: Límite y principal

El ensayo límite es utilizado de manera eficiente para identificar sustancias que tienen baja toxicidad a 2000mg/Kg.





GUÍAS ALTERNATIVAS VALIDADAS: TOXICIDAD AGUDA ORAL

Procedimiento ascendente y descendente (*Up-and-Down*, OECD 425)

Prueba principal

Dosis inicial: Basada en los resultados del ensayo límite.

Si el primer animal sobrevive a la dosis inicial, el segundo animal recibirá una dosis más alta.

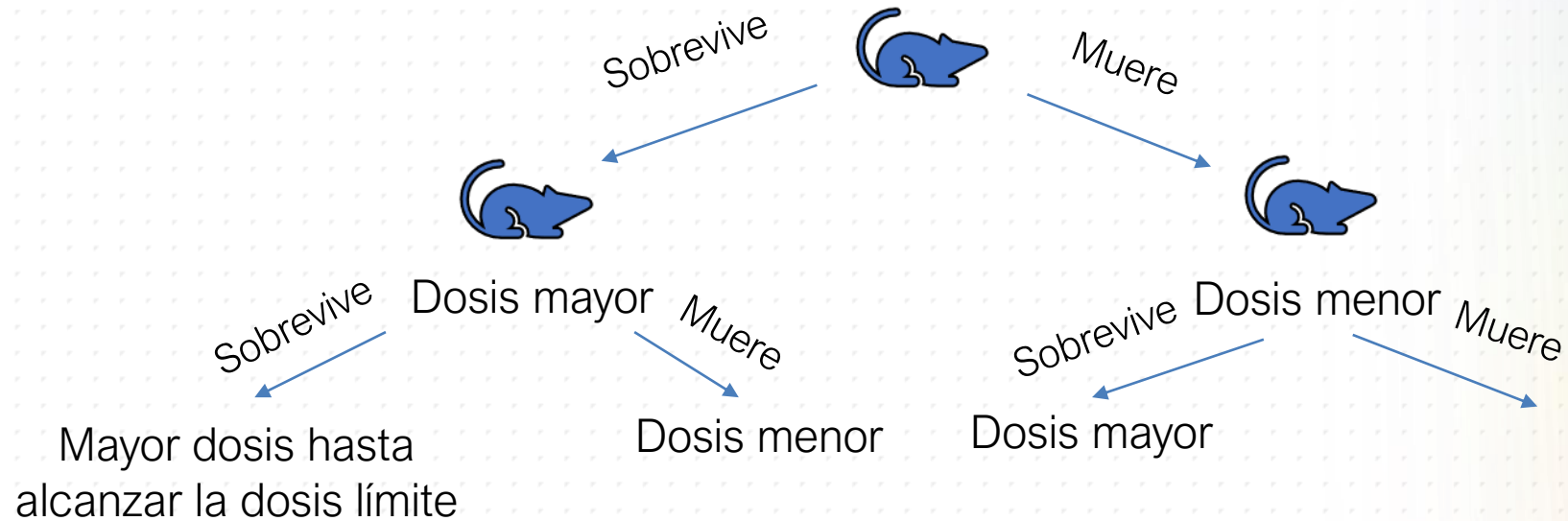
Si el primer animal muere o aparece moribundo en la dosis inicial, el segundo animal recibirá una dosis más baja.

La progresión de la dosis sigue la recomendación del programa AOT425 Stat ([link](#))

– 1.75, 5.5, 17.5, 55, 175, 550, 2000 mg/kg peso corporal

GUÍAS ALTERNATIVAS VALIDADAS: TOXICIDAD AGUDA ORAL

Comenzar con una dosis debajo de la DL_{50} ($n=1$)



Así sucesivamente...

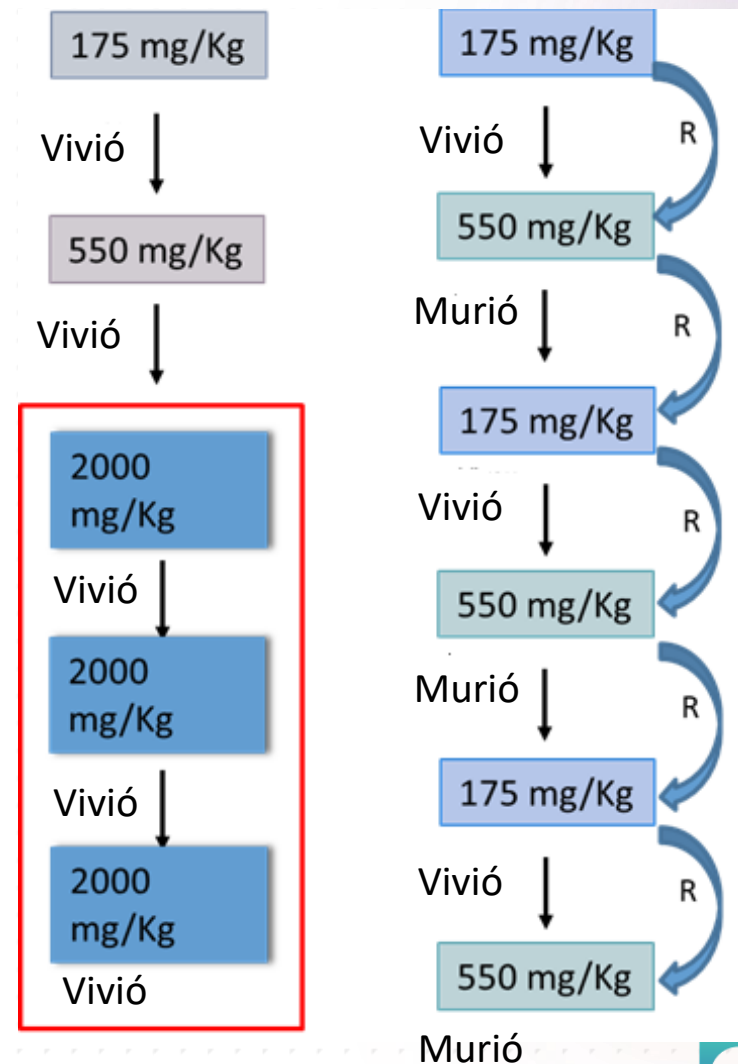
GUÍAS ALTERNATIVAS VALIDADAS: TOXICIDAD AGUDA ORAL

Criterio de interrupción:

-3 animales consecutivos sobreviven en el límite superior.

-Se producen 5 reversiones en 6 animales consecutivos analizados.

-Al menos 4 animales han seguido la primera reversión y las relaciones de probabilidad especificadas superan el valor crítico.



GUÍAS ALTERNATIVAS VALIDADAS: TOXICIDAD AGUDA ORAL

AOT425StatPgm

New Test Load Data Save Data Get Report Options About AOT425 Exit

Test / Substance: Test substance W

Test Type: Main

Limit Dose: 2000

Assumed values at start of the main test
LD50: Default Sigma: 0.5

Test Seq.	Animal ID	Dose mg/kg	Short-term Outcome	Long-term Outcome	Program's Data Entry Messages
1	01	175	0	0	
2	02	550	0	0	
3	03	2000	0	0	
4	04	2000	0	0	
5	05	2000	0	0	
6		Stop Dosing			
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					

The main test is complete.
Stopping criteria met: 3 at Limit Dose.
The LD50 is greater than 2000 mg/kg.

AOT425StatPgm

New Test Load Data Save Data Get Report Options About AOT425 Exit

Test / Substance: Test substance Z

Test Type: Main

Limit Dose: 2000

Assumed values at start of the main test
LD50: Default Sigma: 0.5

Test Seq.	Animal ID	Dose mg/kg	Short-term Outcome	Long-term Outcome	Program's Data Entry Messages
1	01	175	X	X	
2	02	55	0	0	
3	03	175	0	0	
4	04	550	X	X	
5	05	175	X	X	
6	06	55	0	0	
7		Stop Dosing			
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					

The main test is complete.
Stopping criteria met: LR criterion.
Estimated LD50 = 175 (The one dose with partial response). 95% PL Confidence interval is 29.03 to 714.



Toxicidad aguda dérmica



GUÍAS ALTERNATIVAS VALIDADAS: TOXICIDAD AGUDA DÉRMICA

La guía OECD 237 indica los criterios para la no conducción del estudio.

Si la sustancia de prueba es corrosiva o muy irritante para la piel (categoría 1 SGA).

- Datos validados in vivo, in vitro u otros.
- pH inferior o igual a 2 ó superior o igual a 11,5.



Cuando DL_{50} oral es > 2000 mg/kg, sin efecto adverso observado

- En el 98% de los casos, la DL_{50} oral es igual o más grave que la DL_{50} dérmica.
- Se utiliza la misma clasificación de peligro oral para la dérmica.
- Bajo la misma premisa, una exención puede ser considerada si la DL_{50} oral de la sustancia es inferior a 300 mg/kg peso corporal.

Comparación de categorías toxicológicas entre estudios oral y dermal bajo el sistema de SGA

Regulatory Toxicology and Pharmacology 106 (2019) 105–110



Contents lists available at ScienceDirect

Regulatory Toxicology and Pharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/yrtph



Non-relevance of acute dermal toxicity testing for assessing human health protection in the regulatory decision-making for agrochemical formulated products



Andreia O. Latorre^{a,*}, Pedro V.M. Floresta^b, Marylia M. Boff^c, Priscila M. Fagundes^d, Ana P. Martins^{e,1}, Shadia M. Ihlaseh-Catalano^f, Karen C.C. Cazarin^f, Ligia L. Romeo^{a,2}

^a Bayer S.A., Rua Domingos Jorge, 1100, Sao Paulo, SP, Brazil

^b Corteva, Alameda Itapecuru, 506, Alphaville, Barueri, SP, Brazil

^c I HARABRAS S.A. INDUSTRIAS QUIMICAS, Avenida Liberdade, Sorocaba, SP, Brazil

^d Syngenta Crop Protection, Avenida das Nações Unidas, 18001, Sao Paulo, SP, Brazil

^e FMC Química do Brasil LTDA, Av. Dr. Jose Bonifacio Coutinho Nogueira, 150, Campinas, SP, Brazil

^f BASF S.A., Avenida das Nações Unidas, 12997, 17279, Sao Paulo, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Acute toxicity tests
Animal testing reduction
Classification
Crop protection
Dermal toxicity
Oral toxicity
LD₅₀
Reduction
Replacement
Waiver of data

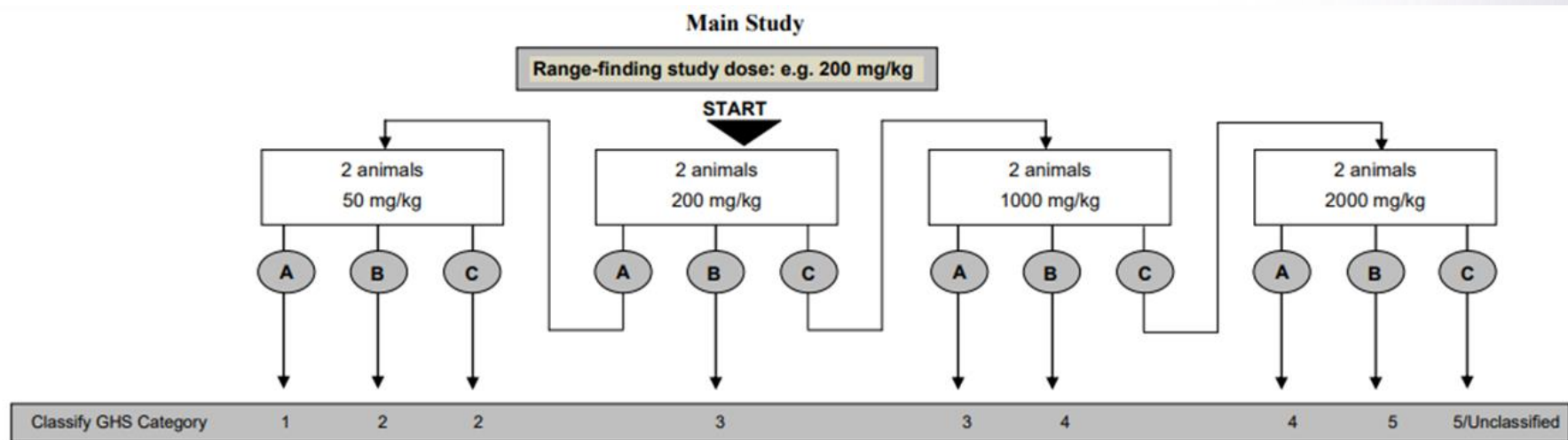
ABSTRACT

Compared to oral toxicity tests, dermal toxicity tests offer little or no additional scientific information or public health protection for agrochemical-formulated products (US EPA, 2016). Based on that, a retrospective analysis of the results of acute oral and dermal LD₅₀ studies of agrochemical products registered in Brazil was carried out by the Technical Group on Toxicological Risk Assessment (GT-ART) of the Brazilian Crop Protection Association (ANDEF). The data were obtained from 6 agrochemical industries that are associated to ANDEF, following these considerations: only rat studies were selected; only paired studies were chosen; only studies performed with top doses $\geq 2,000$ mg/kg were selected; biological products were excluded. The dataset includes 342 formulated products in 21 formulation types. Among these 342 formulated products, 228 have a single active ingredient, 107 have 2 and 7 have 3 or more. The comparison of acute oral to dermal toxicity studies of agrochemical-formulated products registered in Brazil corroborates the United States Environmental Protection Agency (US EPA) conclusion on waiving acute dermal toxicity tests, which will result in avoiding unnecessary use of time and resources, data generation costs and animal testing.



TOXICIDAD AGUDA DÉRMICA

Procedimiento para la evaluación de la toxicidad aguda dérmica (OECD 402)



Outcome

A	▶ 2 Deaths
B	▶ 1 death
C	▶ No evident toxicity and no deaths





Toxicidad aguda inhalatoria



GUÍAS ALTERNATIVAS VALIDADAS: TOXICIDAD AGUDA INHALATORIA

No se acepta actualmente ningún método alternativo in vitro.

La guía OECD 237 determina los criterios para la no conducción de los estudios de toxicidad aguda por inhalación.

Baja volatilidad, presiones de vapor a 20-30° C:

- uso en interiores: $<1 \times 10^{-5}$ kPa (7.5×10^{-5} mmHg)
- uso en exteriores: $<1 \times 10^{-4}$ kPa (7.5×10^{-4} mmHg)

Sustancias que son demasiado grandes para ser inhaladas (gránulos)

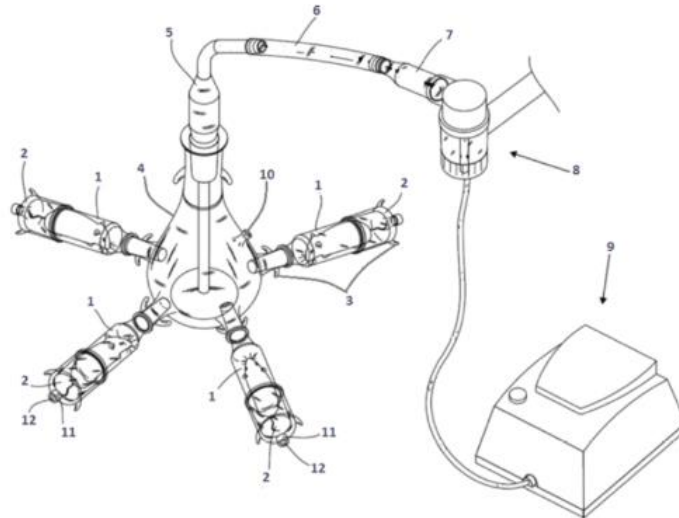
- Es menos probable que las partículas de más de 100 μm sean inhaladas.

No se puede generar un gas, vapor o aerosol de la sustancia de prueba a una concentración suficiente para provocar toxicidad animal bajo las condiciones óptimas de una cámara de inhalación (OECD 403).

- Diámetro aerodinámico medio (MMAD) entre 1 y 4 μm
- Desviación geométrica típica (GSD) en el rango de 1,5 a 3,0 μm

TOXICIDAD AGUDA INHALATORIA

- La guía OECD 403 indica el procedimiento para la evaluación de la toxicidad aguda inhalatoria.
- Ratas, 5 machos y hembras con al menos 3 niveles de concentración o en la prueba límite: 20000 ppm, 20 mg/L and 5 mg/L.
- Grupos de animales se exponen a una concentración límite (prueba límite) o una serie de concentraciones en un procedimiento escalonado durante una duración predeterminada de 4 horas.





REFERENCIAS

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 237 (2017)
<https://www.oecd.org/publications/guidance-document-on-considerations-for-waiving-or-bridging-of-mammalian-acute-toxicity-tests-9789264274754-en.htm>

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 420 (2002)
https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-420-acute-oral-toxicity-fixed-dose-procedure_9789264070943-en

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 423 (2002)
https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-423-acute-oral-toxicity-acute-toxic-class-method_9789264071001-en

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 425 (2008)
https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-425-acute-oral-toxicity-up-and-down-procedure_9789264071049-en

Software to be used with OECD 425: <https://www.oecd.org/env/ehs/testing/section4software.htm>

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 402 (2017)
https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-402-acute-dermal-toxicity_9789264070585-en



REFERENCIAS

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 403 (2009)
<https://www.oecd.org/env/test-no-403-acute-inhalation-toxicity-9789264070608-en.htm>

US EPA. 2016. Guidance for Waiving Acute Dermal Toxicity Tests for Pesticide Formulations & Supporting Retrospective Analysis. <https://www.epa.gov/pesticide-registration/bridging-or-waiving-data-requirements>
PMRA. 2017. Acute Dermal Toxicity Study Waiver. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/consumer-product-safety/pesticides-pest-management/public/consultations/regulatory-proposals/2017/acute-dermal-toxicity-study-waiver/document.html>

Andreia O. Latorre, Pedro V.M. Floresta, Marylia M. Boff, Priscila M. Fagundes, Ana P. Martins, Shadia M. Ihlaseh-Catalano, Karen C.C. Cazarin, Ligia L. Romeo. 2019. Non-relevance of acute dermal toxicity testing for assessing human health protection in the regulatory decision-making for agrochemical formulated products. Regulatory Toxicology and Pharmacology, V. 106, pg 105-110. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.04.014>