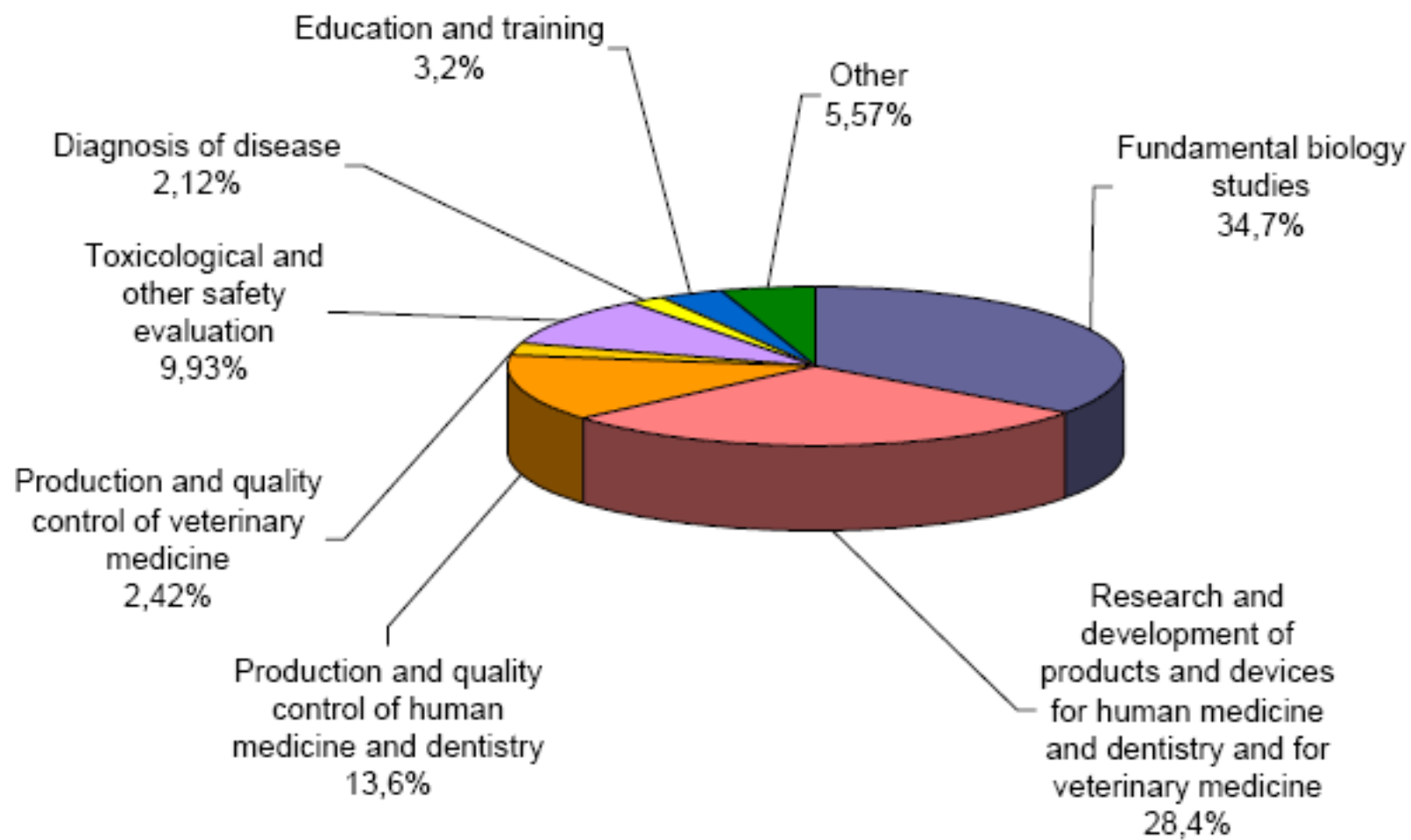


Metody alternatywne

dr Aneta Wiktorek-Smagur
Biuro ds. Substancji Chemicznych

Wykorzystanie zwierząt w UE



12-13 milionów zwierząt/rok używanych w krajach członkowskich UE

Zasada 3R

Reduction

Zmniejszenie liczby
wykorzystywanych
zwierząt



Refinement

Doskonalenie
metod
alternatywnych

Replacement

Zastąpienie zwierząt przez modele
in vitro, ex vivo, in silico

Rys Historyczny

1959 - opublikowanie zasad 3R . Po raz pierwszy została ona określona w opracowaniu „Zasady ludzkich technik eksperymentalnych” autorstwa zoologa Wiliama Russel i mikrobiologa Rexa Burch.

1986 – koncepcja 3R uzyskała wsparcie UE, które wymaga od naukowców i badaczy korzystania z dostępnych metod alternatywnych przed przeprowadzaniem eksperymentów *in vivo*.

1999 – Bolońska Deklaracja 3R – Trzeci Światowy Kongres Metod Alternatywnych i Wykorzystania Zwierząt w Naukach Biologicznych szczególnie silnie potwierdziła potrzebę wprowadzenia w życie zasady 3R.

Powstanie ECVAM

Dyrektywa Rady 86/609/EEG w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów doświadczalnych i naukowych

- ❑ art. 7.2 – „Eksperymentu nie przeprowadza się jeżeli istnieje inna racjonalnie i praktycznie dostępna, naukowo zadowalająca metoda uzyskania odpowiednich wyników, niewymagająca wykorzystania zwierząt”
- ❑ art. 23 – „Komisja i państwa członkowskie powinny zachęcać do badań nad rozwojem i walidacją metod alternatywnych, które mogą zapewnić ten sam poziom informacji jak te otrzymane w doświadczeniach z wykorzystaniem zwierząt, ale które dotyczą mniejszej liczby zwierząt lub które pociągają za sobą mniej bolesne procedury oraz podejmują inne działania, jakie uznają za stosowne do wspierania badań w tej dziedzinie”

ECVAM - 1991

(European centre for the validation of alternative methods)

- ❑ walidacja metod alternatywnych na terenie Unii Europejskiej
- ❑ stworzenie lokalnego punktu wymiany informacji na temat rozwoju metod alternatywnych
- ❑ zorganizowanie i kierowanie bazą danych na temat metod alternatywnych
- ❑ popieranie dialogu między ustawodawcami, przemysłowcami, organizacjami konsumentów i grupami mającymi na celu ochronę zwierząt.

<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/>

Prawo a metody alternatywne

**Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE)
nr 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r.
dotyczące produktów kosmetycznych**

zakaz oceny toksyczności substancji chemicznych na zwierzętach

zakazy przeprowadzania testów na zwierzętach zaczęły w pełni
obowiązywać w dniu 11 marca 2013 r.

Prawo a metody alternatywne

Dyrektywa Rady 86/609/EEG w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów doświadczalnych i naukowych została zastąpiona nową

Dyrektywą 2010/63/EU, która kładzie szczególny nacisk na zasadę 3R.

Dyrektywa 2010/63/EU

Artykuł 47

Metody alternatywne

1. Komisja i państwa członkowskie przyczyniają się do opracowywania i walidacji metod alternatywnych, które mogą zapewnić takie same lub wyższe poziomy informacji, jak uzyskiwane w procedurach z wykorzystaniem zwierząt, które jednak nie obejmują wykorzystywania zwierząt, obejmują wykorzystanie mniejszej liczby zwierząt lub wiążą się z mniej bolesnymi procedurami, oraz podejmują takie działania, jakie uznają za właściwe w celu zachęcania do badań w tej dziedzinie.

Dyrektywa 2010/63/EU

2. Państwa członkowskie wspierają Komisję w określaniu i wyznaczaniu właściwych specjalistycznych laboratoriów spełniających stosowne wymogi merytoryczne, które będą przeprowadzać takie badania walidacyjne.
3. Po konsultacji z państwami członkowskimi Komisja ustanawia priorytety dla tych badań walidacyjnych i przydziela laboratoriom zadania związane z wykonywaniem tych badań.
4. Państwa członkowskie zapewniają propagowanie metod alternatywnych oraz rozpowszechnianie informacji na ich temat na poziomie krajowym.

Dyrektywa 2010/63/EU

Państwa członkowskie wyznaczają jeden punkt kontaktowy, który ma udzielać porad w sprawie znaczenia i adekwatności metod alternatywnych zgłoszonych do walidacji dla wymogów określanych prawem.

Komisja podejmuje stosowne działania, mając na celu uzyskanie międzynarodowej akceptacji metod alternatywnych, które otrzymały walidację w Unii.

Dyrektywa 2010/63/EU

Unijne laboratorium referencyjne

1. Obowiązki i zadania unijnego laboratorium referencyjnego określono w załączniku VII.

Załącznik VII

Obowiązki i zadania Unijnego Laboratorium Referencyjnego

1. Unijnym laboratorium referencyjnym, o którym mowa w art. 48, jest **Wspólne Centrum Badawcze Komisji**.
2. Unijne laboratorium referencyjne odpowiada w szczególności za:
 - a) koordynację i promowanie rozwoju i stosowania metod alternatywnych do procedur, w tym w dziedzinie badań podstawowych i stosowanych oraz badań regulacyjnych;
 - b) koordynację walidacji alternatywnych podejść na szczeblu Unii;
 - c) występowanie w roli centrum wymiany informacji w zakresie opracowywania metod alternatywnych;

Załącznik VII

Obowiązki i zadania Unijnego Laboratorium Referencyjnego

- d) tworzenie, utrzymywanie i prowadzenie publicznych baz danych i systemów informacji dotyczących podejść alternatywnych i poziomu ich rozwoju;
 - e) promowanie dialogu między prawodawcami, organami regulacyjnymi i wszystkimi zainteresowanymi stronami, w szczególności: przemysłem, naukowcami działającymi w dziedzinie biomedycyny, organizacjami konsumentów i grupami zajmującymi się dobrostanem zwierząt w celu wypracowania, walidacji, akceptacji regulacyjnej, uznania w skali międzynarodowej i stosowania metod alternatywnych.
3. Unijne laboratorium referencyjne uczestniczy w walidacji metod alternatywnych.

Powstanie EURL ECVAM

Powstało oficjalnie w 2011 roku na mocy Dyrektywy 2010/63/EU

Siłą napędową było wzrastające zapotrzebowanie na nowe alternatywne metody, które zostaną opracowane, a następnie zatwierdzone w Unii Europejskiej.

EURL ECVAM kontynuuje rozszerzenie zakresu prac ECVAM (dawnego Europejskiego Centrum Walidacji Metod Alternatywnych) utworzonego w 1991 r.

EURL ECVAM



Opracowana metoda alternatywna opracowana przez naukowców najpierw musi przejść skomplikowany proces **walidacji oraz rejestracji** prowadzony przez Europejskie Centrum Walidacji Metod Alternatywnych aby mogła zostać wprowadzona jako swoisty zamiennik badania na zwierzęciu.

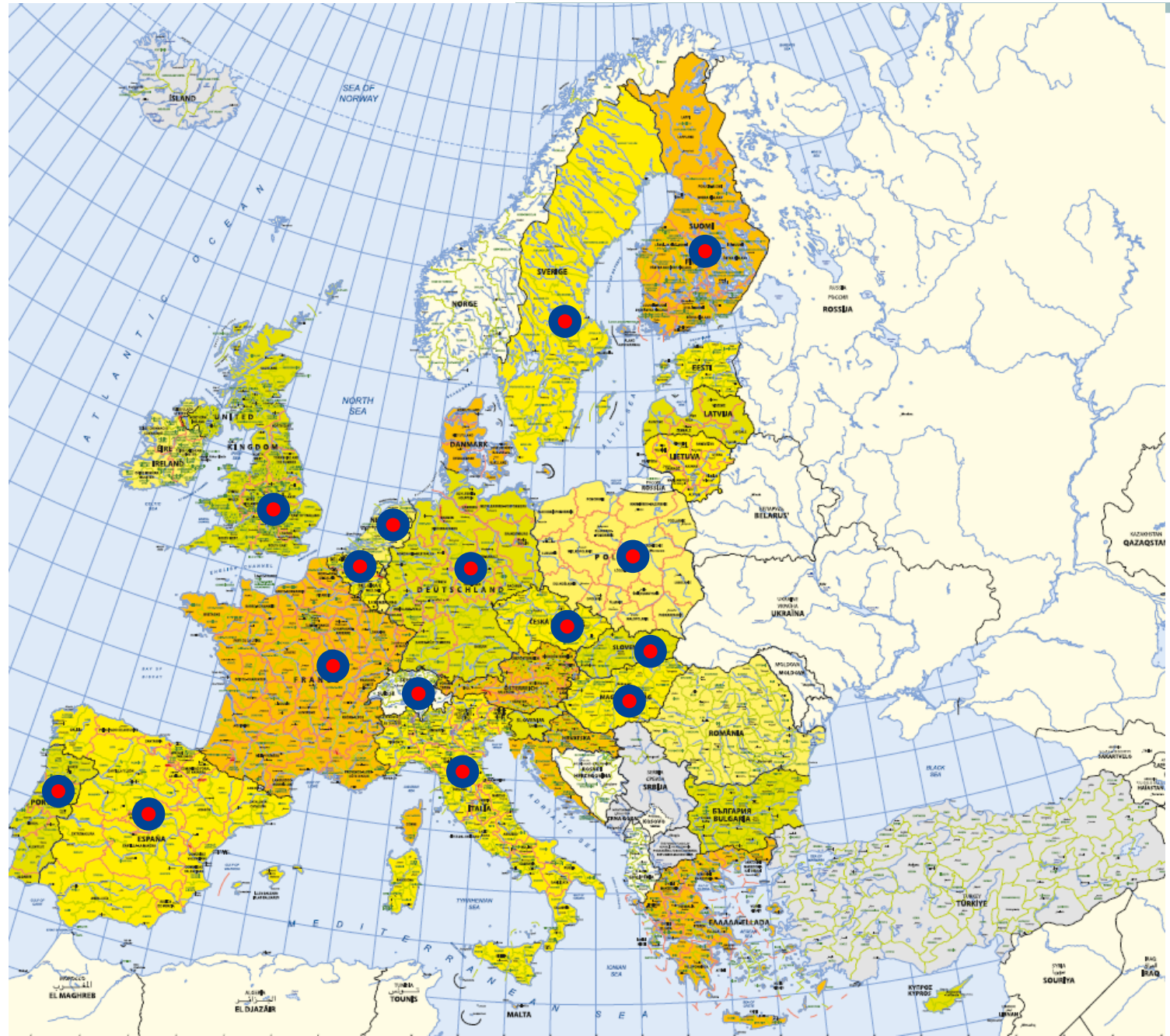
EU-NETVAL

EURL ECVAM utworzyło EU-NETVAL, sieć laboratoriów Unii Europejskiej ds. walidacji metod alternatywnych, na podstawie art. 47 ust. 2 dyrektywy 2010/63/UE.

Celem EU-NETVAL jest zapewnienie wsparcia przede wszystkim w zakresie badań walidacyjnych EURL ECVAM.

EU-NETVAL

1. Włochy
2. Belgia
3. Czechy
4. Francja
5. Finlandia
6. Niemcy
7. Węgry
8. Holandia
9. Polska
10. Portugalia
11. Słowacja
12. Hiszpania
13. Szwecja
14. Szwajcaria
15. Anglia



EU-NETVAL

W 2015 r. dwie polskie jednostki badawcze:

- ❑ Selvita S.A. (Kraków)
- ❑ Zakład Toksykologii i Kancerogenezy Instytutu Medycyny Pracy (Łódź)

przyjęto do współpracy w ramach międzynarodowego programu dotyczącego rozwoju i walidacji nowych metod alternatywnych (EU-NETVAL).



OECD

Międzynarodowa Organizacja obejmuje 36 krajów uprzemysłowione (rok przystąpienia do organizacji)

- ☐ Austrię (1961)
- ☐ Belgię (1961)
- ☐ Danię (1961)
- ☐ Francję (1961)
- ☐ Niemcy (1961)
- ☐ Grecję (1961)
- ☐ Islandię (1961)
- ☐ Irlandię (1961)
- ☐ Włochy (1961)
- ☐ Luksemburg (1961)
- ☐ Holandię (1961)
- ☐ Norwegię (1961)
- ☐ Portugalie (1961)
- ☐ Hiszpanię (1961)
- ☐ Szwecję (1961)

- ☐ Szwajcarię (1961)
- ☐ Turcję (1961)
- ☐ Wielką Brytanię (1961)
- ☐ Stany Zjednoczone (1961)
- ☐ Kanadę (1961)
- ☐ Japonię (1964)
- ☐ Finlandię (1969)
- ☐ Australię (1971)
- ☐ Nową Zelandię (1973)
- ☐ Meksyk (1994)
- ☐ Republikę Czeską (1995)
- ☐ Węgry (1996)

- ☐ Polskę
(22 listopada 1996)
- ☐ Południową Koreę (1996)
- ☐ Republikę Słowacką (2000)
- ☐ Słowenię (2010)
- ☐ Izrael (2010)
- ☐ Chile (2010)
- ☐ Estonię (2010)
- ☐ Łotwa (2016)
- ☐ Litwa (2018)



Cele OECD

- ❑ wspieranie państw członkowskich w osiągnięciu jak najwyższego poziomu wzrostu gospodarczego i stopy życiowej obywateli.
- ❑ wypracowuje „reguły gry” w międzynarodowych stosunkach gospodarczych
- ❑ tzn. opracowuje i wprowadza w życie wspólne zasady (wytyczne) i normy działania (standardy) w poszczególnych dziedzinach gospodarki

Wytyczne OECD

Wytyczne OECD

1. Badania Własności Fizykochemicznych
2. Skutki dla Systemów Biotycznych
3. Rozkład i Akumulacja
4. Skutki dla Zdrowia
5. Inne Wytyczne Badawcze



> Testing of chemicals

> Assessment of chemicals

> Risk management of chemicals

> Chemical accident prevention, preparedness and response

> Pollutant release and transfer register

> Safety of manufactured nanomaterials

> Agricultural pesticides and biocides

> Biosafety - BioTrack

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals

The [OECD Guidelines](#) are a unique tool for assessing the potential effects of chemicals on human health and the environment. Accepted internationally as standard methods for safety testing, the Guidelines are used by professionals in industry, academia and government involved in the testing and assessment of chemicals (industrial chemicals, pesticides, personal care products, etc.). These Guidelines are regularly updated with the assistance of thousands of national experts from OECD member countries. OECD Test Guidelines are covered by the Mutual Acceptance of Data, implying that data generated in the testing of chemicals in an OECD member country, or a partner country having adhered to the Decision, in accordance with OECD Test Guidelines and Principles of Good Laboratory Practice (GLP), be accepted in other OECD countries and partner countries having adhered to the Decision, for the purposes of assessment and other uses relating to the protection of human health and the environment.

> [More about OECD Test Guidelines](#)> [Section 1: Physical Chemical Properties](#)> [Section 2: Effects on Biotic Systems](#) (Software for TG 223)> [Section 3: Environmental Fate and Behaviour*](#) (Softwares for TG 305 and TG 318)> [Section 4: Health Effects](#) (Software for TG 455, TG 432 and TG 425)> [Section 5: Other Test Guidelines](#)> [List of Adopted Test Guidelines Including Dates of Revisions](#)> [List of TG Addenda adopted by Council](#)> [Draft Test Guidelines and public commenting rounds](#)

*In 2017, the section 3 "Degradation and Accumulation" was renamed to "Environmental Fate and Behaviour" to take into account Test Guidelines measuring endpoints such as dispersion, aggregation.



OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4

Health Effects

The OECD Guidelines for the Testing of Chemicals is a collection of about 150 of the most relevant internationally agreed testing methods used by government, industry and independent laboratories to identify and characterise potential hazards of chemicals. They are a set of tools for professionals, used primarily in regulatory safety testing and subsequent chemical and chemical product notification, chemical registration and in chemical evaluation. They can also be used for the selection and ranking of candidate chemicals during the development of new chemicals and products and in toxicology research. This group of tests covers health effects.

[Less](#)**English** | Also available in: [French](#)[More On ▾](#)ISSN: 20745788 (online) | <https://doi.org/10.1787/20745788>[Email this Page](#)[Subscribe to the RSS feed](#)

METODY ALTERNATYWNE



Metody
in vitro

The diagram consists of a large, light blue oval background. Inside this oval, there are two smaller, dark blue circles. The left circle contains the text 'Metody in vitro' and the right circle contains the text 'Zmodyfikowane metody in vivo'. The circles are positioned side-by-side, separated by a small gap.

Zmodyfikowane
metody *in vivo*

Metody alternatywne

1. metody *in vitro*:
 - a. hodowle komórkowe
 - b. zrekonstruowane tkanki
2. *ex vivo*
 - a. wyizolowane zwierzęce tkanki i organy
3. *in silico*
 - a. symulacje komputerowe
 - b. modele matematyczne

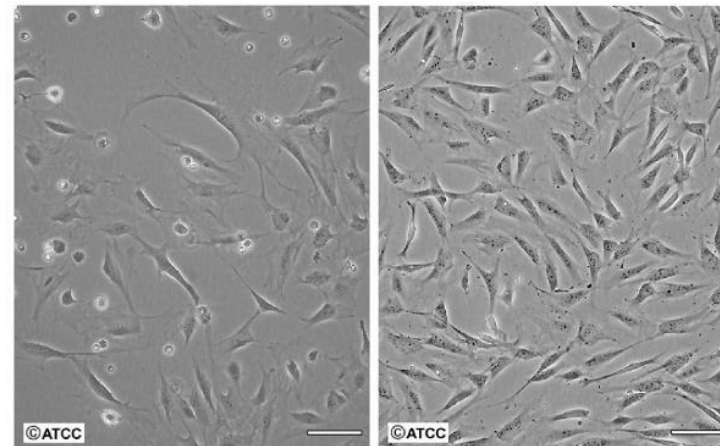
Metody alternatywne - Zalety

- ❑ Brak skutków ubocznych dla innych organów
- ❑ Kontrolowane warunki badań
- ❑ Do osiągnięcia wysoki poziom standaryzacji badań-zmniejszenie różnic w wynikach badań pomiędzy doświadczeniami
- ❑ Szybkość wykonania i niska cena
- ❑ Użycie niewielkiej ilości materiału
- ❑ Wytwarzanie ograniczonej ilości toksycznych odpadów
- ❑ Możliwość wykorzystania do badań komórek i tkanek ludzkich oraz transgenicznych komórek niosących ludzkie geny

Metody alternatywne - Zalety

Do zbudowania modelu *in vitro* można wykorzystać:

- ☐ pierwotne kultury komórkowe,
- ☐ ustalone linie komórkowe,
- ☐ ciągłe linie komórkowe,
- ☐ trójwymiarowe zrekonstruowane modele tkanek z komórek ludzkiej skóry



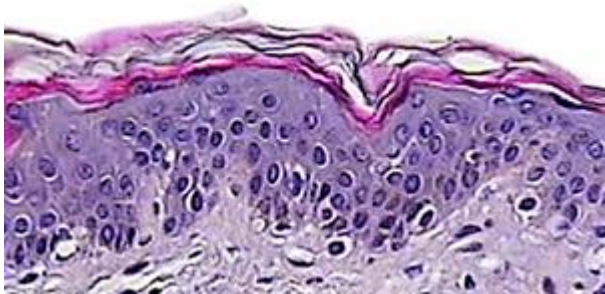
Kokultury organotypowe

Ich zadaniem jest konstruowanie modeli komórkowych wykazujących jak najwięcej właściwości narządu, z którego zostały wyprowadzone.

Kokultura organotypowa skóry

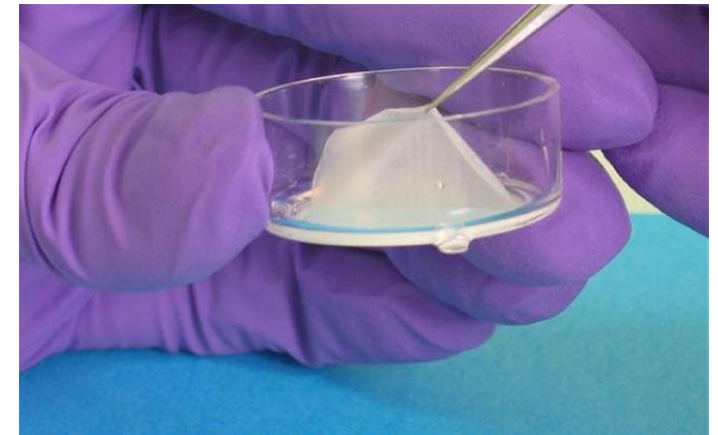
Przypominający żywą tkankę ekwiwalenty naskórka jest bardzo użytecznym narzędziem w badaniach kosmetologicznych, zwłaszcza dzięki warstwom ułożonym i zorganizowanym tak jak w prawdziwym naskórku: podstawnej, kolczystej, ziarnistej oraz warstwy rogowej, gdzie pomiędzy komórkami znajdują się warstwy lipidowe reprezentujące lipidy naskórka.

Kokultura organotypowa skóry



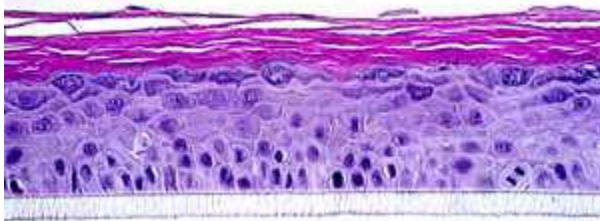
in vitro reconstructed human epidermis (SkinEthic)

Model ludzkiego naskórka



in vitro SkinEthic Reconstructed Human Epidermis zawiera ludzkie keranocyty

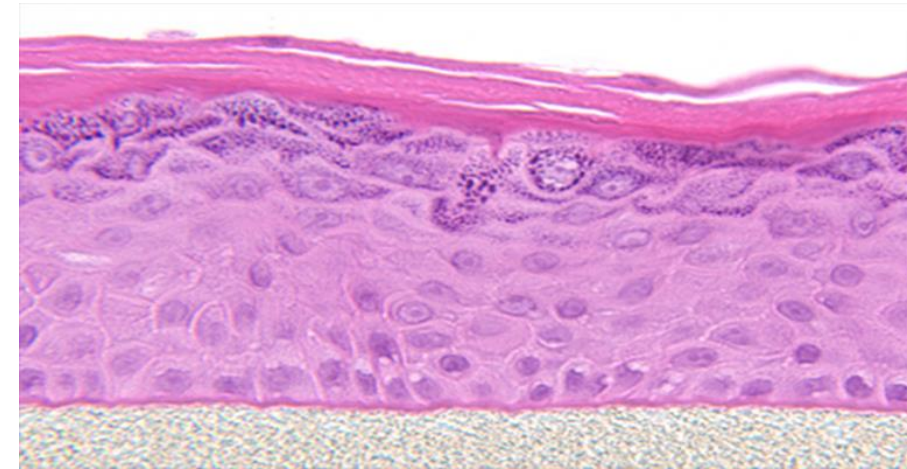
Model ten jest identyczny z *in vivo* ludzkim naskórkiem.



in vivo human epidermis (SkinEthic)

Kokultura organotypowa skóry

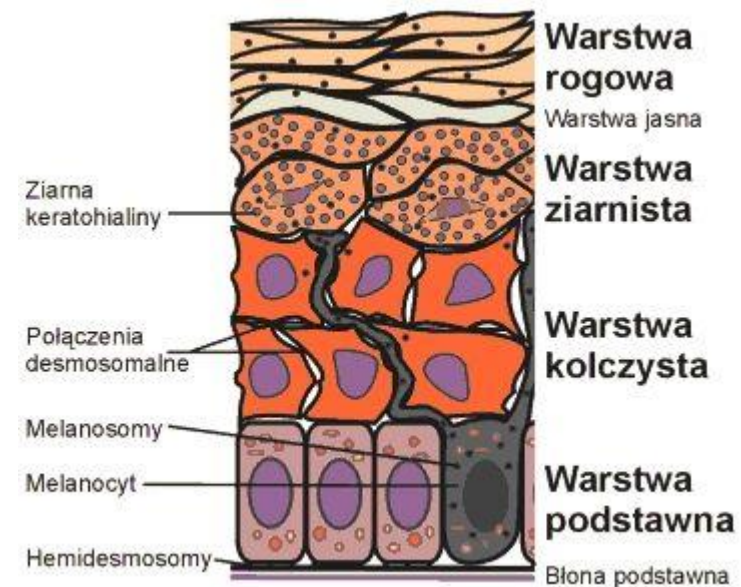
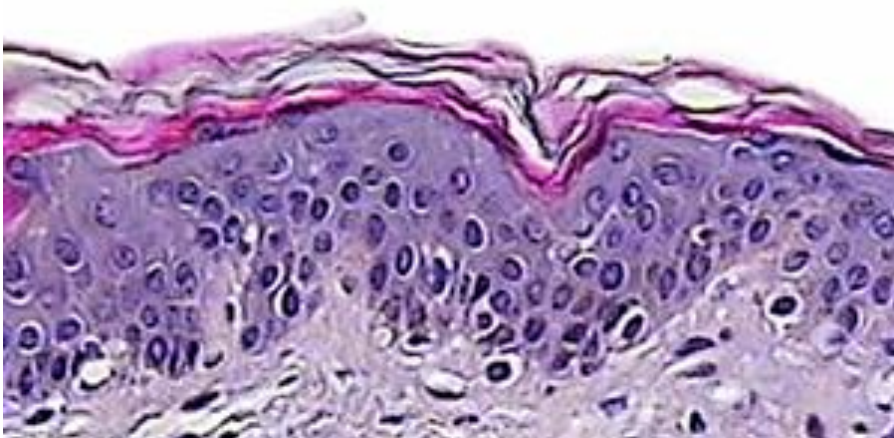
Model ludzkiej skóry

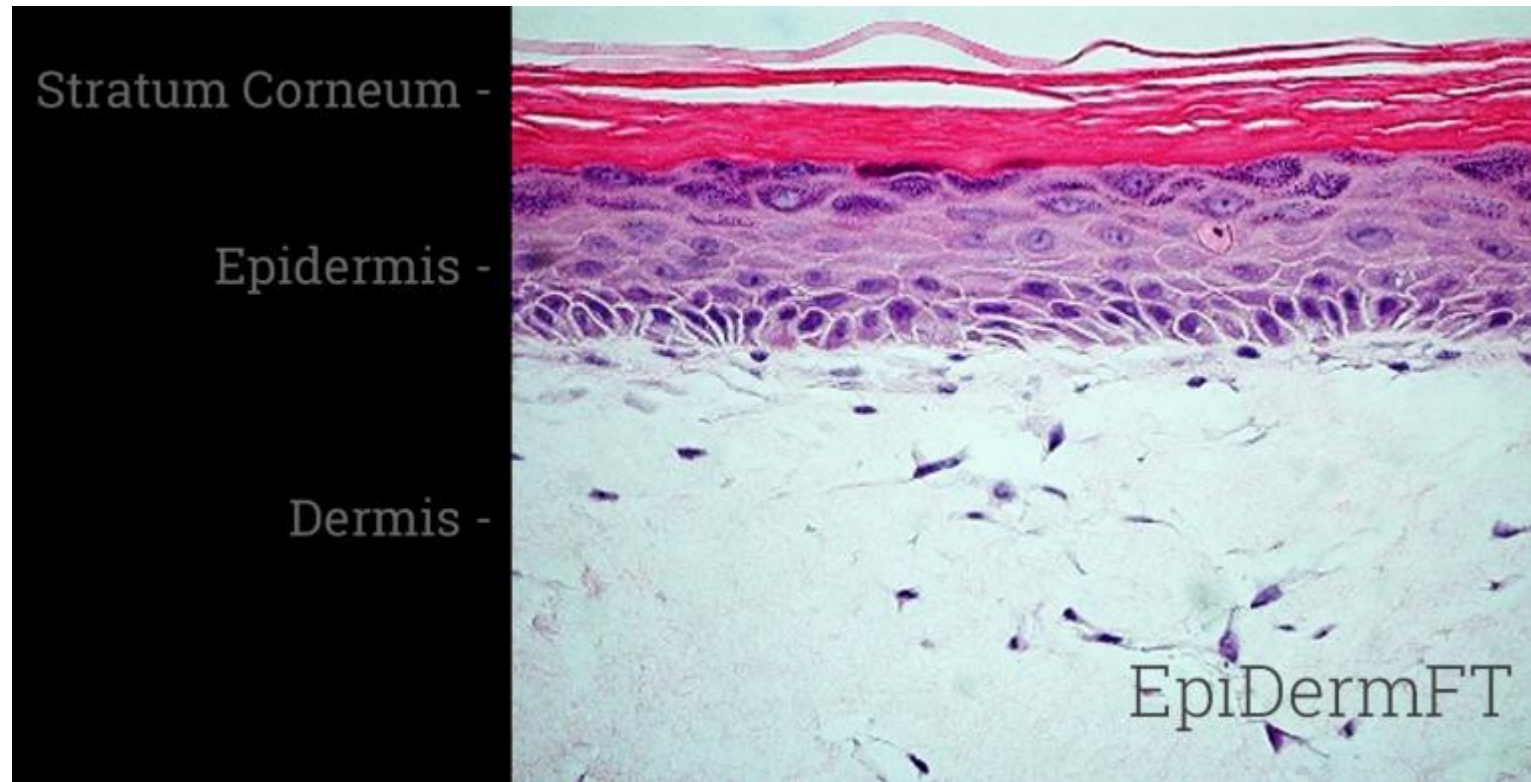


EpiDermFT Full Thickness
Skin Model (Mattek)
EPISKIN

Kokultura organotypowa skóry

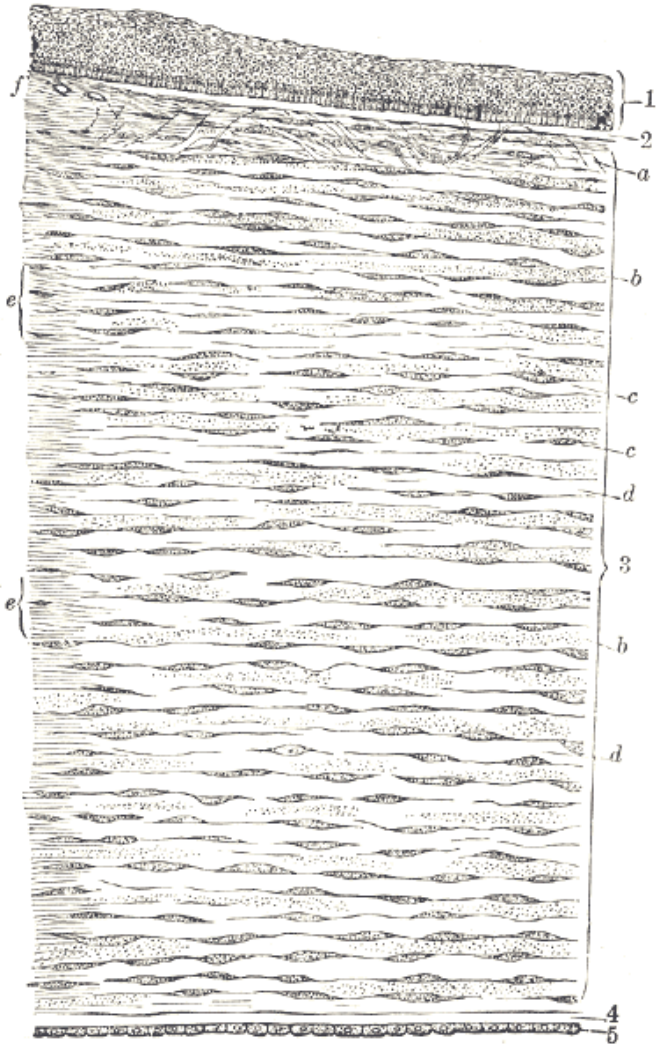
Model ludzkiego naskórka z melanocytami





- MatTek's EpiDermFT system consists of normal, human epidermal keratinocytes (NHEK) and normal, human dermal fibroblasts (NHFB) cultured to form a multilayered model of the human dermis and epidermis.

Kokultura organotypowa - rogówka

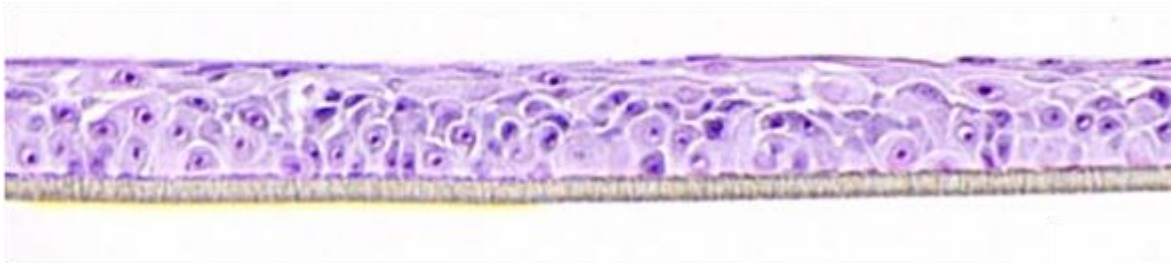


1. Nabłonek zewnętrzny.
2. Błona Bowmana
- b. Błona włókien, które są przecięte w poprzek dając kropkowany obraz.
- c. Ciała rogówkowe (fibrocyty) o kształcie wrzecionowatym w tym przekroju.
- d. Błona włókien, które są przecięte podłużnie.
- e. Przejście w twardówkę z bardziej wyróżniającym się układem włókien oraz otoczeniem przez grubszy nabłonek
- f. Małe naczynia krwionośne przechodzące blisko brzegu rogówki
4. Błona Descemeta.
5. Śródbłonek komory przedniej oka.

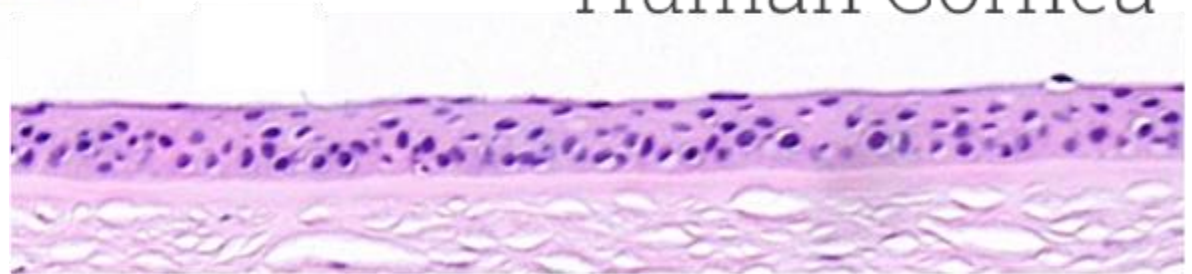
Kokultura organotypowa - rogówka

Model ludzkiej rogówki

EpiOcular



Human Cornea



Przegląd Wytycznych Stosowanych w Toksykologii przy Wykorzystaniu Metod Alternatywnych

Toksyczność ostra

Toksyczność ostra

❑ OECD TG 420 & 423

- ✓ B.1.BIS. Toksyczność ostra (podanie drogą pokarmową). Metoda Ustalanej Dawki
- ✓ B.1.TRIS. Toksyczność ostra (podanie drogą pokarmową). Metoda Klas Ostrej Toksyczności
 - Three animals are used for each step. The dose level to be used as the starting dose is selected from one of four fixed levels, 5, 50, 300 and 2000 mg/kg body weight.

❑ OECD TG 425 - Up-and-Down-Procedure (UDP)

- ✓ The Limit Test is a sequential test that uses a maximum of 5 animals. A test dose of 2000, or exceptionally 5000 mg/kg, may be used.

Fototoksyczność

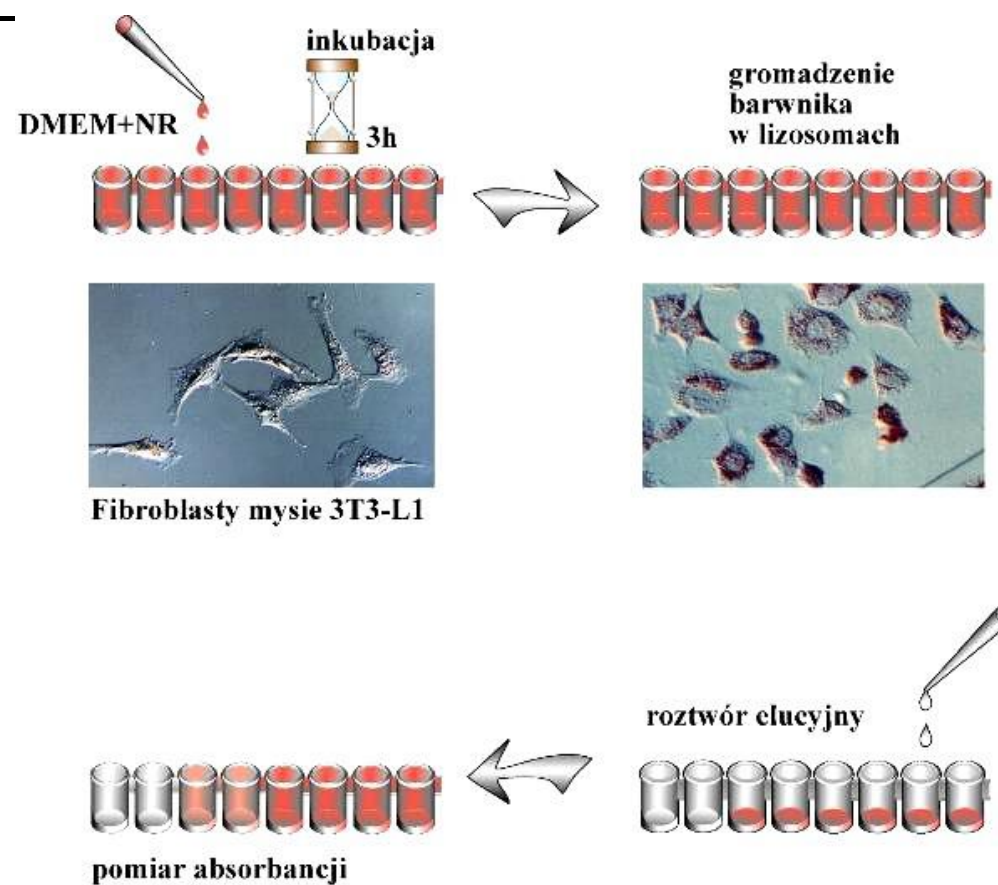
Fototoksyczność

Zgodnie z zaleceniami OECD do badań tych używana jest linia unieśmiertelnionych mysich fibroblastów (Balb/c 3T3, klon A31), do których dodaje się badany związek, naświetla światłem UV z zakresu UVA lub UVB, a następnie określa śmiertelność komórek w prostym teście opartym o pobieranie przez nie barwnika - czerwieni neutralnej.



Fototoksyczność

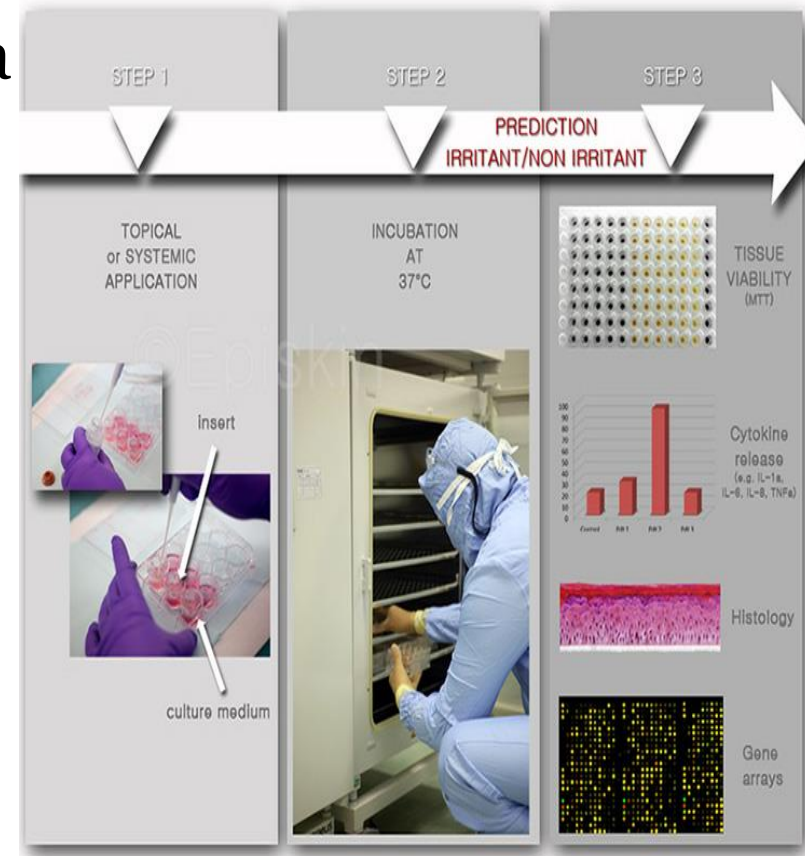
- OECD TG 432 (2004)/EU B.41 (2000) – 3T3 NRU



Dermal Corrosion/Irritation

Podrażnienie skóry

Stosowanie kosmetyków lub leków przezskórnych może powodować podrażnienia skóry objawiające się jako pieczenie, swędzenie, zaczerwienienie czy łuszczenie. Problemy takie to nic innego jak miejscowa reakcja zapalna komórek wierzchniej warstwy naskórka na składniki zawarte w preparatach. Do badań podrażnienia świetnie nadają się hodowle keratynocytów.



Podrażnienie skóry

Komórki te budują zewnętrzną żywą warstwę skóry, przez co są najbardziej narażone na działanie czynników zewnętrznych. To one również odpowiedzialne są za wywołanie miejscowego stanu zapalnego poprzez produkcję cytokin prozapalnych, takich jak IL-1 α , IL-6, IL-8 czy TNF α .

Pomiar poziomu cytokin, głównie IL-1 α , jest więc dobrym narzędziem do oszacowania potencjalnego drażniącego działania preparatów aplikowanych na skórę.

Stężenie cytokiny oznacza się w pożywce keratynocytów hodowanych w obecności testowanych substancji w immunoenzymatycznym teście ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

Metoda ELISA pozwala określić stężenie cytokin prozapalnych w supernatantach uzyskanych po hodowli stymulowanych komórek.

Skin Corrosion

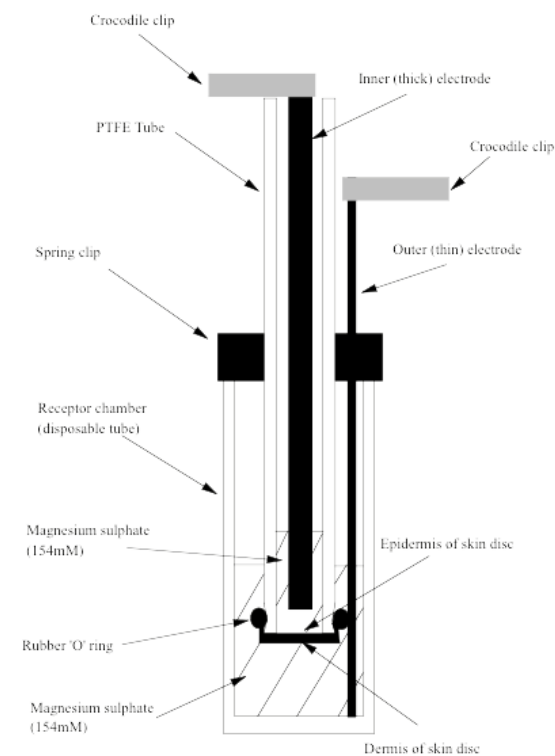
Działanie żrące na skórę

- OECD TG 431/ EU B.40bis Reconstructed human Epidermis
- EpiSkin, SkinEthic RHE, epiCS, EpiDerm

Działanie żrące na skórę

❑ Transcutaneous Electrical Resistance Test - TER (OECD TG 430)

Płatki (10-15 sztuk) skóry z młodych szczurów
(28-30 dni)



Skin Irritation

Działanie drażniące na skórę

- ❑ OECD TG 439/ EU B.46 Reconstructed human Epidermis
 - EpiSKIN SIT-model
 - EpiDerm EPI 300-SIT model
 - SkinEthic SIT model
 - LabCyte EPI-MODEL24 SIT

Skin sensitization

Działanie uczulające na skórę

- ❑ Test spływowych węzłów chłonnych – OECD TG 429
- ❑ LLNA: DA – OECD TG 442 A
- ❑ LLNA: BrdU-Elisa – OECD TG 442B

Test LLNA jest oparty na rozmnażaniu limfocytów w węzłach limfatycznych usznych myszy.

- ❑ Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA)- OECD TG 442C
- ❑ KeratinoSens – OECD TG 442D
- ❑ Human Cell Activation Test (h-CLAT) – OECD TG 442 E
- ❑ Skin sensitisation assay IL-8 Luc assay – OECD TG 442 E
- ❑ Skin sensitisation assay U937 Cell Line Activation Test (U-SENS) – jw

Eye Irritation

Podrażnienie oka

W latach 40. ubiegłego wieku do badań podrażnienia oka wprowadzono test Draiz'a – szeroko krytykowany ze względu na jego drastyczność, a jednocześnie niepowtarzalność uzyskanych wyników.

Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) test OECD TG 437

- ❑ zmętnienie rogówki wyizolowanego oka bydła
- ❑ In Vitro Irritancy Score (IVIS)
- ❑ $IVIS \geq 55$ – Cat 1
- ❑ $IVIS \leq 3$ – Brak klasyfikacji

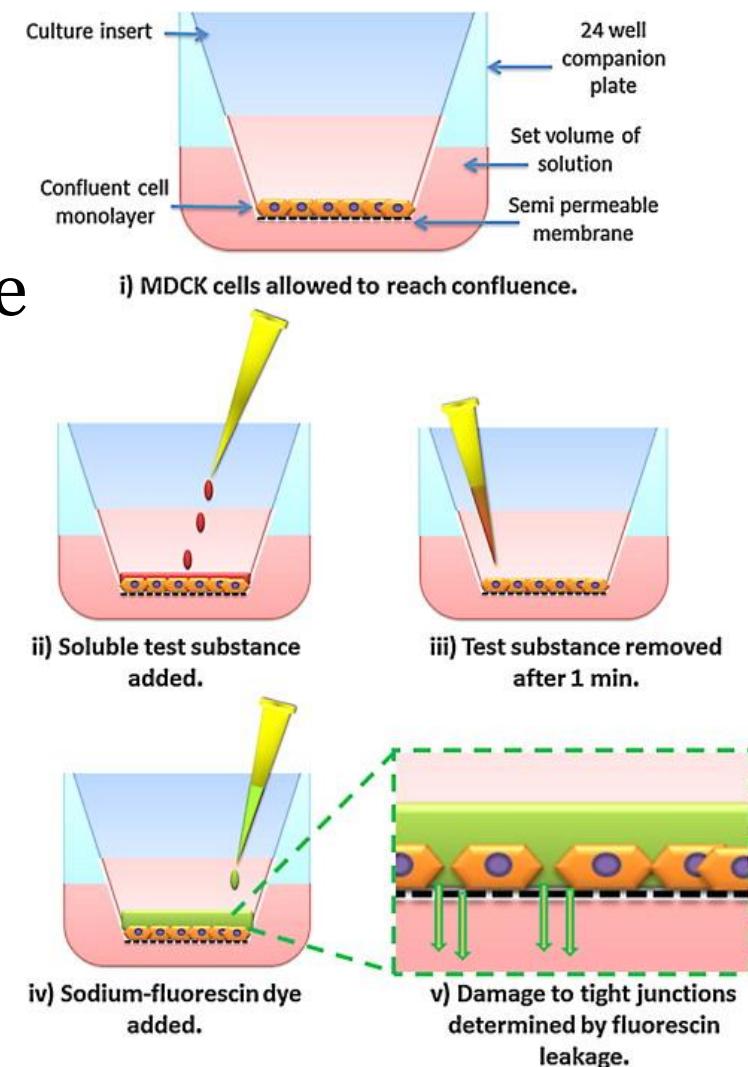


Isolated Chicken Eye (ICE) test - OECD TG 438

- ❑ Zmętnienie rogówki wyizolowanego oka kurczaka
- ❑ Materiał badany jest nakładany na nabłonek zewnętrzny

Fluorescein Leakage (FL) test OECD 460

- ❑ Klasyfikacja –
- ❑ Cat. 1 dla substancji rozpuszczalnych w wodzie
- ❑ 3 powtórzenia dla każdej koncentracji



Short Term Exposure (STE) test OECD TG 491

- ❑ Linia komórkowa rogówki królika - SIRC [Statens Seruminstitut Rabbit Cornea] (ATCC® CCL-60™)
- ❑ Materiał badany – 5% i 0,05% - 5 min (RT)
- ❑ Odczyt – MTT

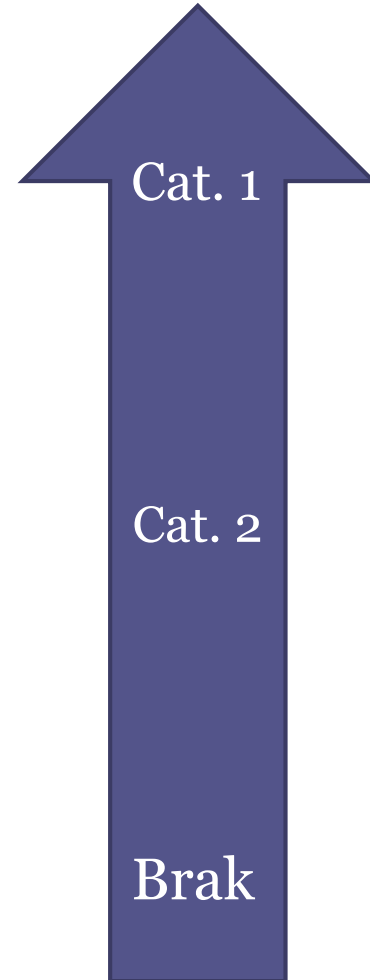
Reconstructed human Corneal-like Epithelium (RhCE) models (TG 492)

- ❑ EpiOcular
- ❑ Cell viability > 60 % - Brak klasyfikacji
- ❑ Płyny – 50 µl – 30 min (culture condition), 12 min RT – fresh medium, 120 min post exposure
- ❑ Ciała stałe: 50 mg – 6 h (culture condition), 25 min RT – fresh medium, 18 h post exposure

Metody alternatywne - oko



Draize Test OECD TG 405



Cat. 1

BCOP – OECD TG 437
ICE – OECD TG 438
FL – OECD TG 460
STE – OECD TG 491

Cat. 2

Brak metod *in vitro*

Brak

BCOP – OECD TG 437
ICE – OECD TG 438
STE – OECD TG 491
RhCE – OECD TG 492

Genotoksyczność

Genotoksyczność

❑ OECD TG 471; 473; 476; 479, 489

- ✓ B.10. Mutagenność (test aberracji chromosomowych *in vitro* na komórkach ssaków)
- ✓ B.13/14. Mutagenność (test rewersji mutacji na bakteriach)
- ✓ B.15. Mutagenność (test mutacji genowych na komórkach *Saccharomyces cerevisiae*)
- ✓ B.16. Mutagenność (test rekombinacji mitotycznych na komórkach *Saccharomyces cerevisiae*)
- ✓ B.17. Mutagenność (test mutacji genowych na komórkach ssaków)
- ✓ B.18. Uszkodzenie i naprawa DNA-Nieplanowa Synteza DNA-Badanie na komórkach ssaków *in vitro*
- ✓ B.19. Test wymiany chromatyd siostrzanych *in vitro*
- ✓ B.20. Recesywne mutacje letalne związane z płcią u *Drosophila Melanogaster*
- ✓ B.21. Transformacja komórek ssaków *in vitro*

❑ OECD TG 487 – test mikrojądrowy

Endocrine Disruptor

Substancje zaburzające gospodarkę hormonalną

- ❑ Stably transfected human estrogen receptor – α transcriptional activation assay for detection of estrogenic agonist- activity of chemicals (STTA and BG1-Luc assay) – OECD TG 455
- ❑ H295R Steroidogenesis assay - OECD TG 456
- ❑ BG1Luc human estrogen receptor transcriptional activation assay: agonist and antagonist protocol - OECD TG 457
- ❑ OECD TG 493

Carcinogenicity

Kancerogenność

- ❑ *In vitro* Bhas 42 cel transformation assay (CTA) – OECD GD 231
- ❑ *In vitro* Syrian hamster embryonic cells (SHE) cell transformation assay (CTAs) – OECD GD 214

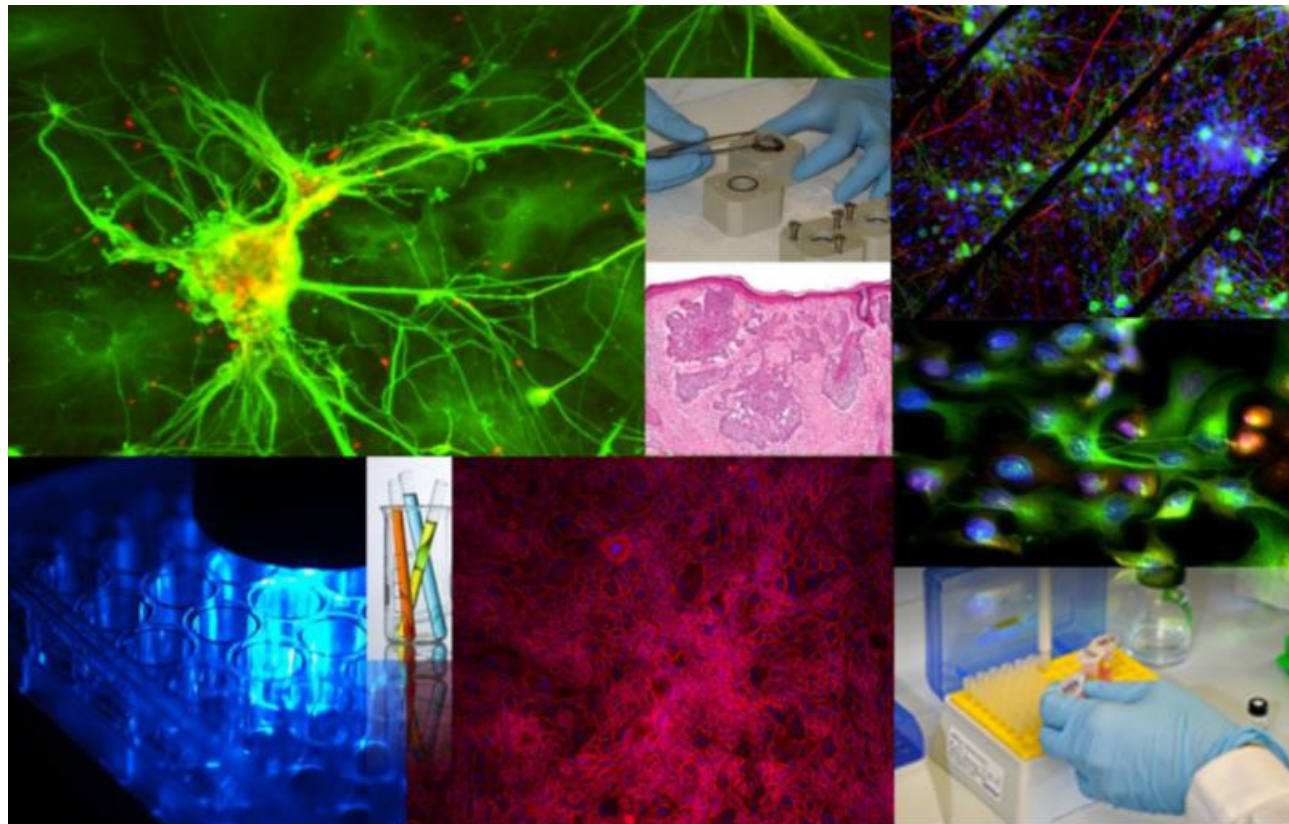
Acute Aquatic Toxicity

Toksyczność ostra dla środowiska wodnego

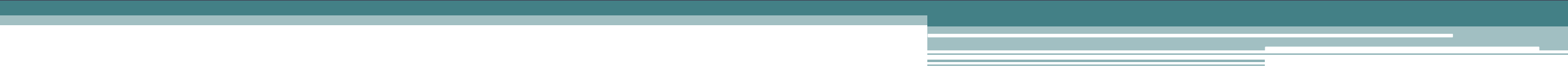
- Zebrafish Embryo Acute Toxicity Test (ZFET) – OECD TG 236

Podsumowanie

Metody alternatywne posiadają ogromny potencjał w eliminacji bądź ograniczeniu udziału zwierząt w badaniach



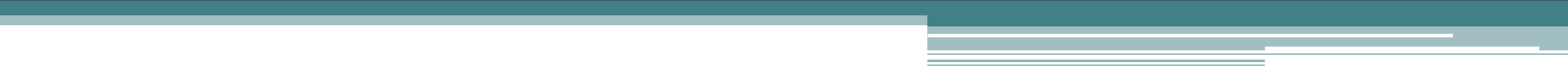
Całkowite ZASTĄPIENIE (REPLACEMENT)

- ☐ Fototoksyczność
 - ☐ Badanie drażniącego/żrącego działania na skórę
 - ☐ Absorbcja przezskórna
- 
- A series of horizontal lines in teal and light blue colors, some solid and some dashed, extending across the bottom of the slide.

Częściowe ZASTĄPIENIE (REPLACEMENT)

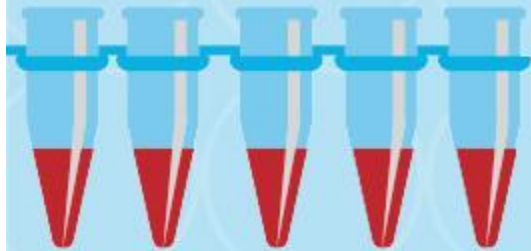
- ❑ Badanie drażniące lub uszkodzające oko
 - ❑ Działanie uczulające na skórę
- 
- A decorative graphic element consisting of several horizontal lines of varying lengths and colors (teal, light blue, and white) extending across the bottom of the slide.

Zmniejszenie (REDUCTION) i Doskonalenie (REFINEMENT)

- ☐ Toksyczność ostra
 - ☐ Genotoksyczność
 - ☐ Endocrine disruptors
- 
- A series of horizontal lines in teal and light blue colors, of varying lengths, extending from the left edge of the slide towards the right, positioned below the list of items.



GIVIMP



OECD Guidance Document
on Good In Vitro Method Practices

Good *In vitro* Method Practices (GIVIMP)

1. Responsibilities
2. Quality considerations
3. Facilities
4. Apparatus, material and reagents
5. Test systems
6. Test and reference items (including negative and positive control items)
7. Standard operating procedures (SOPs)
8. Performance of the method
9. Reporting of the method
10. Storage and retention of records and materials

Good *In vitro* Method Practices (GIVIMP)

Poradnik ma zapewnić, że cały proces od opracowywania metody *in vitro* do implementacji metody będzie wydajniejszy i efektywniejszy oraz zapewni wiarygodne i powtarzalne informacje, które będą odpowiadały na potrzeby różnych grup docelowych, korzystających z wskazówek GIVIMP.

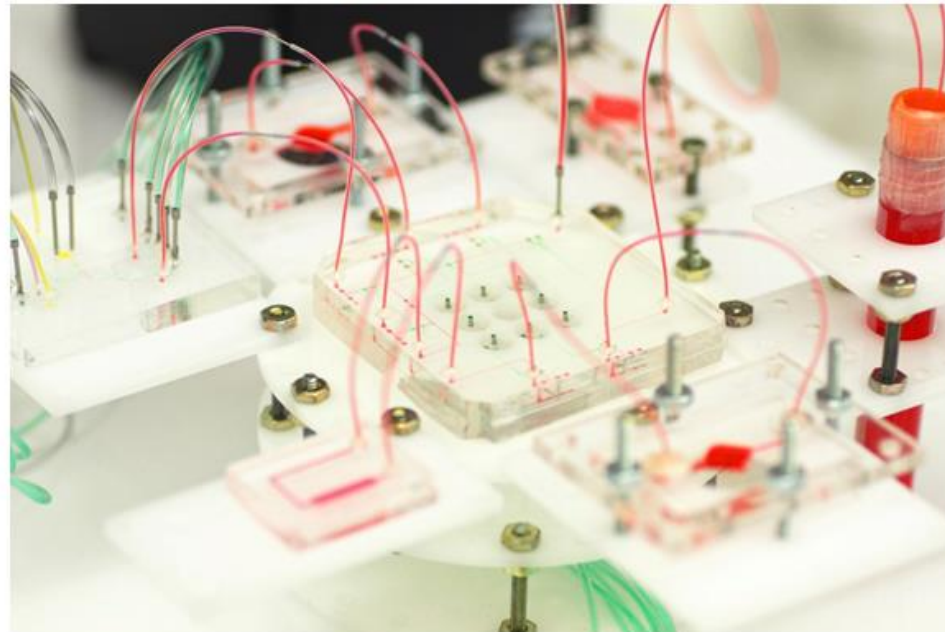
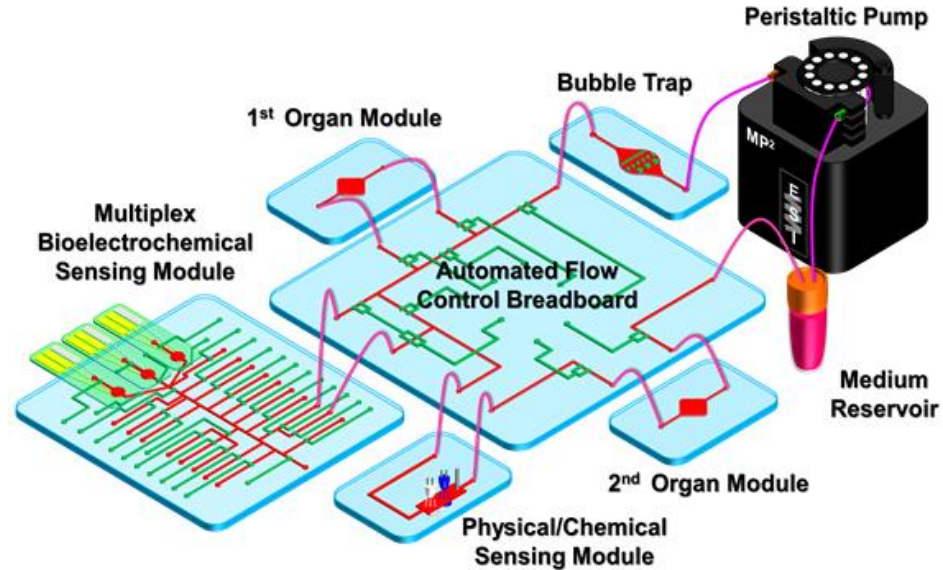
Organ on chip

Organ on chip

- jest wielokanałowym mikro płytkowym chipem do hodowli komórek 3-D, który symuluje czynności, mechanikę i reakcję fizjologiczną całych narządów i układów narządów, rodzaj sztucznego narządu.
- umożliwiło to badanie fizjologii człowieka w kontekście specyficznym dla narządu, wprowadzając nowy model wielokomórkowych organizmów ludzkich *in vitro*.

Organ on chip

- **Lung-on-a-chip**
- **Heart-on-a-chip**
- **Kidney-on-a-chip**
- **Artery-on-a-chip**
- **Skin-on-a-chip**



Aneta Wiktorek-Smagur

aneta.smagur@chemikalia.gov.pl

Krajowy Koordynator ds. Metod Badawczych

Biuro ds. Substancji Chemicznych

ul. Dowborczyków 30/34 Łódź