

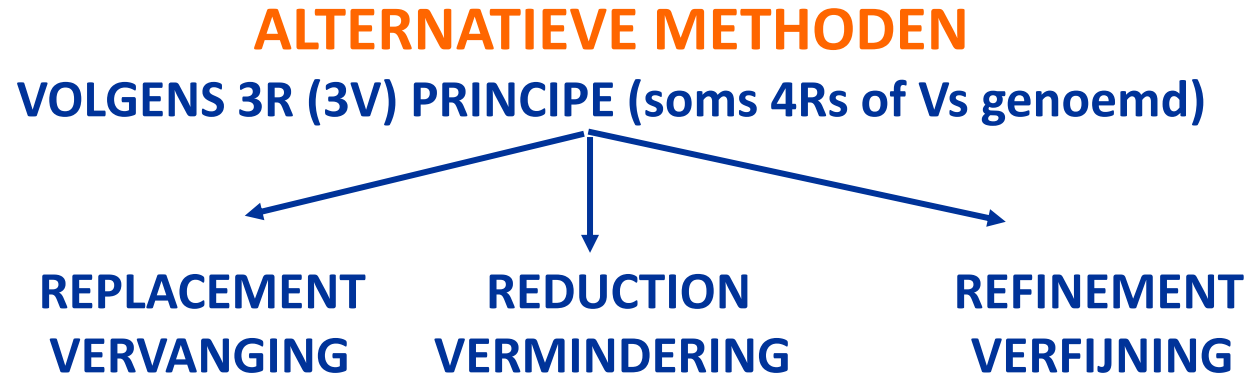
DE HUIDIGE STATUS VAN GEVALIDEERDE 3R-ALTERNATIEVE METHODEN -VEILIGHEID VOOR MENS-

Prof. Vera ROGIERS

*In Vitro Toxicologie en
Dermato-Cosmetologie
Vrije Universiteit Brussel*



WAT ?



**IN REGULATORISCHE CONTEXT:
GEVALIDEERDE METHODEN**

VALIDATIE PROCES



WAT ? en WAAR ?

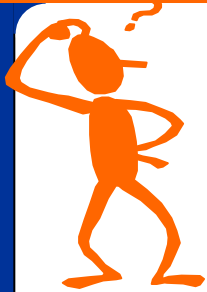
ECVAM (1991) = **E**uropean **C**entre for the **V**alidation of **A**lternative **M**ethods
in **JRC** (**J**oint **R**esearch **C**entre)



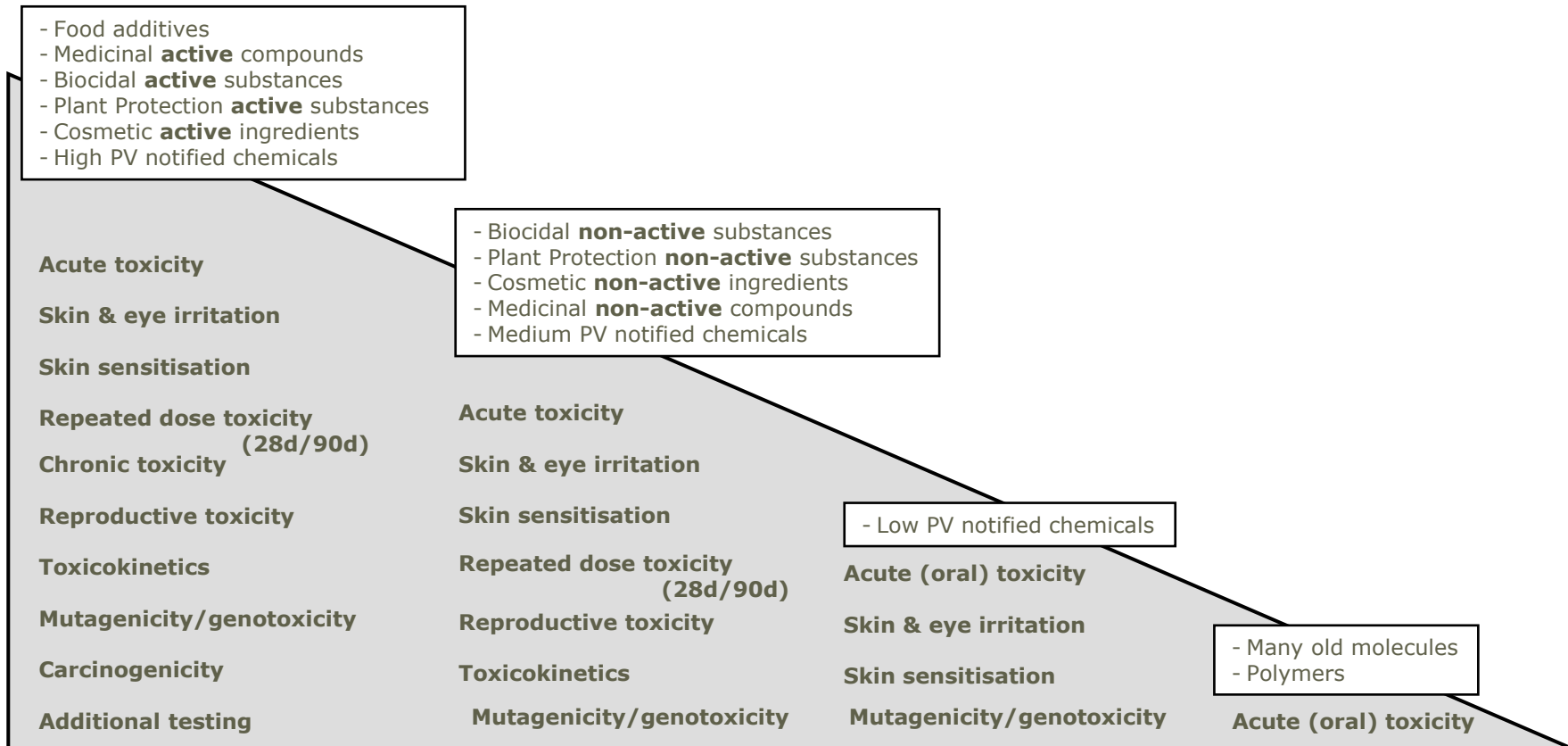
EURL ECVAM (sinds 2011) = **E**uropean **U**nion **R**eference **L**aboratory
for Alternatives to animal testing.

MANDAAT betreft de volledige levenscyclus van alternatieve methoden

ONTWIKKELING ⇒ **VALIDATIE** ⇒ **REGULATORISCHE ACCEPTATIE**
⇒ **INTERNATIONALE ERKENNING** ⇒ **WETENSCHAPPELIJK GEBRUIK**



WELKE VEILIGHEIDSTESTEN OF TOXICOLOGISCHE TESTEN ZIJN NODIG ?



→ BEPALENDE FACTOREN: - TYPE STOF (ACTIEF VS NIET-ACTIEF)
- PRODUCTIE VOLUME

VOOR BESCHERMING VAN VOLKSGEZONDHEID

- *Geneesmiddelen*
- *Voedseladditieven*
- *Chemicalien*
- *Biociden*
- *Plantprotectieproducten*

3Rs van toepassing:
in vivo testen met minder dieren,
in humane omstandigheden



dierproeven

- *Cosmetische producten*

1R van toepassing



proefdiervrij

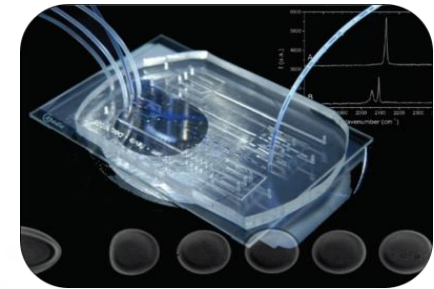
METHODOLOGIE



alternative in vivo models



in vitro tests



in chemico methods



clinical studies



*in silico models
read-across, grouping, ...*

Eindpunten

Acute toxiciteit

Huid en oogirritatie

Huid sensibilisering

Fototoxiciteit

Toxicokinetica

Herhaalde dosis/
Chronische toxiciteit

Reproductieve toxiciteit

Mutageniciteit/genotoxiciteit/
Carcinogeniciteit

Bijkomende studies

GEVALIDEERDE ALTERNATIEVE TOXICOLOGISCHE TESTEN

Eindpunten
Acute toxiciteit
Huid en oogirritatie
Huid sensibilisering
Fototoxiciteit
Toxicokinetica
Herhaalde dosis/ Chronische toxiciteit
Reproductieve toxiciteit
Mutageniciteit/genotoxiciteit/ Carcinogeniciteit
Bijkomende studies

→ **IN VIVO LD₅₀ TEST (oraal, inhalatie, dermaal)**



**GEVALIDEERDE VERMINDERINGS - EN
VERFIJNINGSalTERNATIEVEN
(OECD 420, 425, 433, 434 voorstel, 436)**



NOG IN VIVO TEST

~~MAAR DOOD ALS EINDPUNT~~

GEVALIDEERDE ALTERNATIEVE TOXICOLOGISCHE TESTEN

Eindpunten

Acute toxiciteit

Huid en oogirritatie

Huid sensibilisering

Fototoxiciteit

Toxicokinetica

Herhaalde dosis/
Chronische toxiciteit

Reproductieve toxiciteit

Mutageniciteit/genotoxiciteit/
Carcinogeniciteit

Bijkomende studies

DRAIZE HUID TEST (OECD 404)

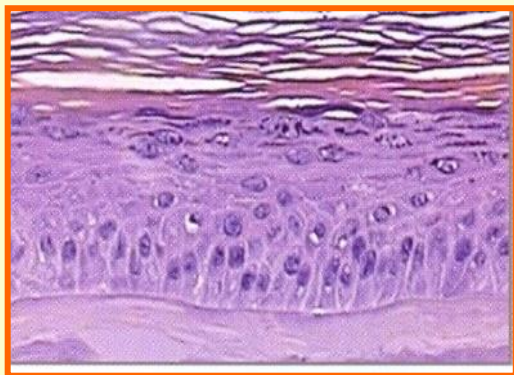
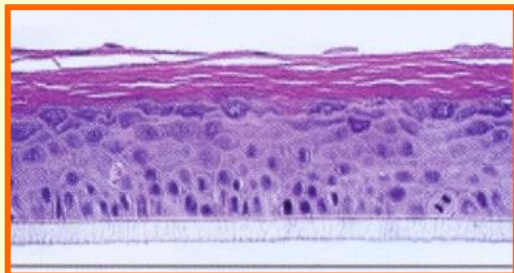


VERBODEN !

Eindpunten

Acute toxiciteit

Huid en oogirritatie



DRAIZE HUID TEST (OECD 404)



**GEVALIDEERDE
HUMANE VERVANGINGSALTERNATIEVEN
VOOR CORROSIE VAN HUID
(OECD 430, 431)**

**VOOR IRRITATIE VAN HUID
(OECD 439)**

GEVALIDEERDE ALTERNATIEVE TOXICOLOGISCHE TESTEN

Eindpunten

Acute toxiciteit

Huid en **oogirritatie**

Huid sensibilisering

Fototoxiciteit

Toxicokinetica

Herhaalde dosis/
Chronische toxiciteit

Reproductieve toxiciteit

Mutageniciteit/genotoxiciteit/
Carcinogeniciteit

Bijkomende studies

→ **DRAIZE OOG TEST (OECD 405)**



NOG NIET VOLLEDIG VERBODEN



VERFIJNINGS- EN VERMINDERINGS PROTOCOL
Zoals: aantal dieren, pH metingen, verdoving, pijnstillers, ...

Eindpunten

Acute toxiciteit

Huid en **oogirritatie**

Huid sensibilisering

Fototoxiciteit

Toxicokinetica

Herhaalde dosis/
Chronische toxiciteit

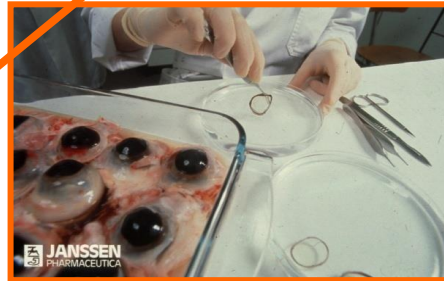
Reproductieve toxiciteit

Mutageniciteit/genotoxiciteit/
Carcinogeniciteit

Bijkomende studies

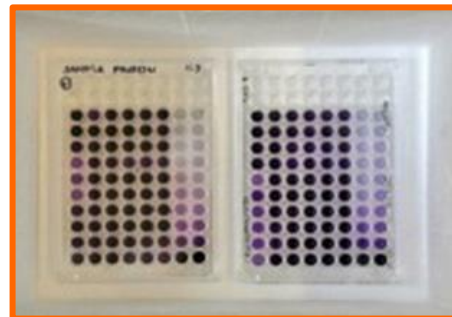
IN VITRO SCREENINGSTESTEN

1) ORGANOTYPISCHE TESTEN



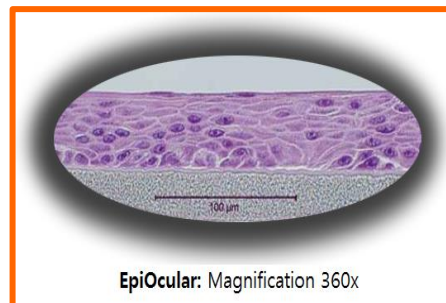
- Geisoleerde cornea's van slachthuisrunderen (OECD 437)
- Geisoleerde ogen van slachthuiskippen (OECD 438)

2) CYTOTOXICITEITSTESTEN



- Cellijnen (OECD 460, 491)

3) GERECONSTRUEERDE HUMANE WEEFSEL TESTEN



- Humane corneacellen in cultuur (OECD 492)

GEVALIDEERDE ALTERNATIEVE TOXICOLOGISCHE TESTEN

Eindpunten
Acute toxiciteit
Huid en oogirritatie
Huid sensibilisering
Fototoxiciteit
Toxicokinetica
Herhaalde dosis/ Chronische toxiciteit
Reproductieve toxiciteit
Mutageniciteit/genotoxiciteit/ Carcinogeniciteit
Bijkomende studies

**IN VIVO VERFIJNINGS-/REDUCTIE TEST
LLNA**

(LOCAL LYMPH NODE ASSAY)

(OECD 429, 442A)

IN VITRO VERVANGINGSTESTEN

**PASSEND IN PRINCIPE VAN
"ADVERSE OUTCOME PATHWAY (AOP)"**

3 TESTEN (OECD 442 C, D, E)

Eindpunten

Acute toxiciteit

Huid en oogirritatie

Huid sensibilisering

Fototoxiciteit

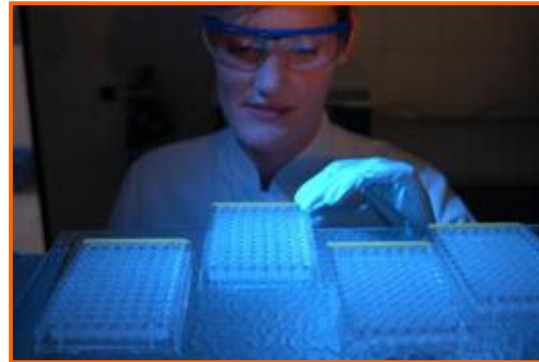
Toxicokinetica

Herhaalde dosis/
Chronische toxiciteit

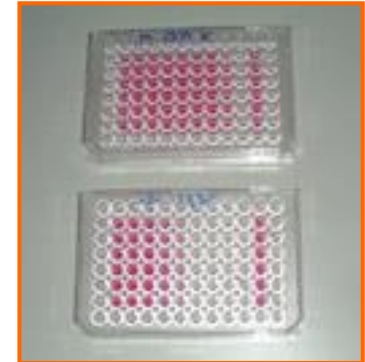
Reproductieve toxiciteit

Mutageniciteit/genotoxiciteit/
Carcinogeniciteit

Bijkomende studies



Institute Dr. Schrader, DE



3T3(NRU)PT VERVANGINGSTEST (OECD 432)

- Op cellijnen
- Op gereconstrueerde huid

GEVALIDEERDE ALTERNATIEVE TOXICOLOGISCHE TESTEN

Eindpunten

Acute toxiciteit

Huid en oogirritatie

Huid sensibilisering

Fototoxiciteit

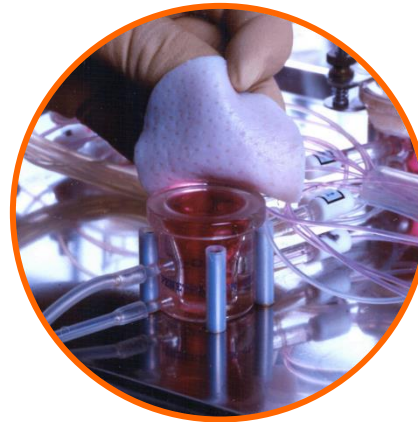
Toxicokinetica (ADME) →

Herhaalde dosis/
Chronische toxiciteit

Reproductieve toxiciteit

Mutageniciteit/genotoxiciteit/
Carcinogeniciteit

Bijkomende studies



W. Steiling

ALLEEN VOOR
DERMALE ABSORPTIE (huid van varken, mens,)
VERVANGINGSTEST (OECD 428)
NIET VOOR Distributie, Metabolism en Excretie

GEVALIDEERDE ALTERNATIEVE TOXICOLOGISCHE TESTEN

Eindpunten

Acute toxiciteit

Huid en oogirritatie

Huid sensibilisering

Fototoxiciteit

Toxicokinetica

**Herhaalde dosis/
Chronische toxiciteit**

Reproductieve toxiciteit

Mutageniciteit/genotoxiciteit/
Carcinogeniciteit

Bijkomende studies

**VOOR SYSTEMISCHE TOXICITEIT:
PROBLEMATISCH**

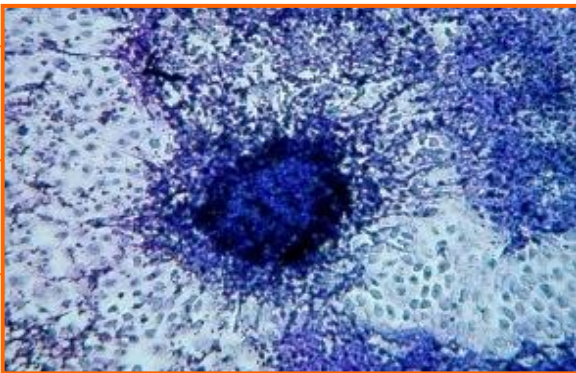
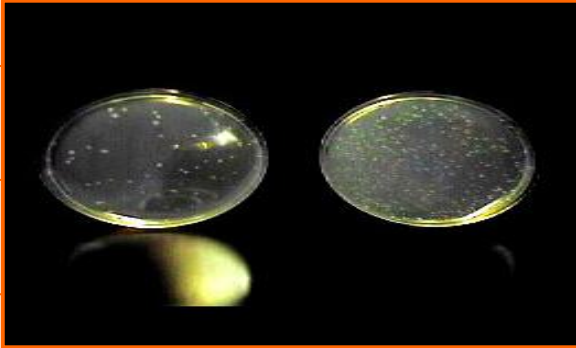


**GEEN PROEFDIERVRIJE ALTERNATIEVEN
!!!!
NODIG BIJ RISICO EVALUATIE**



**GEEN NIEUWE PROEFDIER-VRIJE STOFFEN
!!!!
vb. cosmetica: geen nieuwe
ingrediënten sinds 2013**

Eindpunten



Mutageniciteit/genotoxiciteit
Carcinogeniciteit

Bijkomende studies

IN VITRO VERVANGINGSTESTEN

- bacteriële cellijnen en vooral zoogdier cellijnen (OECD 471, 487)



VEEL VALS POSITIEVE RESULTATEN
→ BEPERKING

Vorming van "tumor" in cultuur: celtransformatie van cellijnen (oecd214, 231)

4 *in vitro* testen om endocriene verstoorders (ED) op te sporen (OECD 455, 457, 458, 493)

WAAR STAAN WE VANDAAG ?



VOOR LOCALE EN ACUTE TOXICITEIT



**VOOR SYSTEMISCHE TOXICITEIT,
ESSENTIEEL VOOR RISICOKARAKTERISATIE**

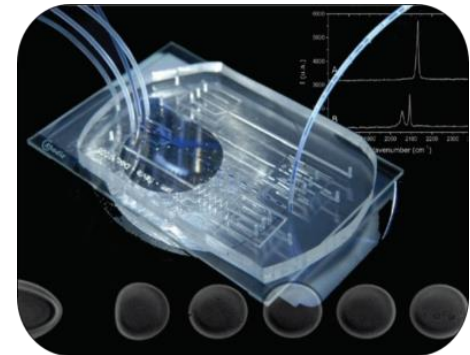


NAAR MEER HUMANE RELEVANTIE

- DIERLIJKE CELLEN/WEEFSELS → HUMANE CELLEN/WEEFSELS
- “TEST PER TEST” → WoE COMBINATIE *in chemico, in silico, in vitro*
- WILLEKEURIGE BASIS → MECHANISTISCHE BASIS
- 2D-CULTUURMODEL → 3D-CULTUURMODEL
- STATISCHE CULTUUR → DYNAMISCHE FLOW

SYSTEMISCHE TOXICITEITSTESTEN

- VAN VERS GEISOLEERDE CELLEN, CELLIJNEN NAAR
→ STAMCELLEN DIFFERENTIEREN TOT SPECIFIEKE
WEEFSELCELLEN
→ MINI-ORGANEN LAB-ON-CHIP



Hartelijk dank voor Uw aandacht !!!



Vragen?