

WORKSHOP BPL  
25-27 SETEMBRO 2018



MINISTÉRIO DA  
INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR  
E SERVIÇOS

GOVERNO  
FEDERAL

# Os Princípios de Boas Práticas de Laboratório (OECD) & Estudos in vitro

Luciene Bottentuit López Balottin, D.Sc.

DIMAV/INMETRO

**ESTUDOS IN VITRO**  
(métodos alternativos  
à experimentação  
animal)





The National Network of Alternative Methods - RENAMA  
Was created by  
Ministry of Science, Technology, Innovation and Communication -  
MCTIC, is supervised by a Steering Committee.

2012





ASSOCIATED LABS: 39  
CENTRAL LABs: 3

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS (UFG)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (UFMG)  
ÚNICA EDUCACIONAL - FACULDADE INFORIUM DE TECNOLOGIA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)

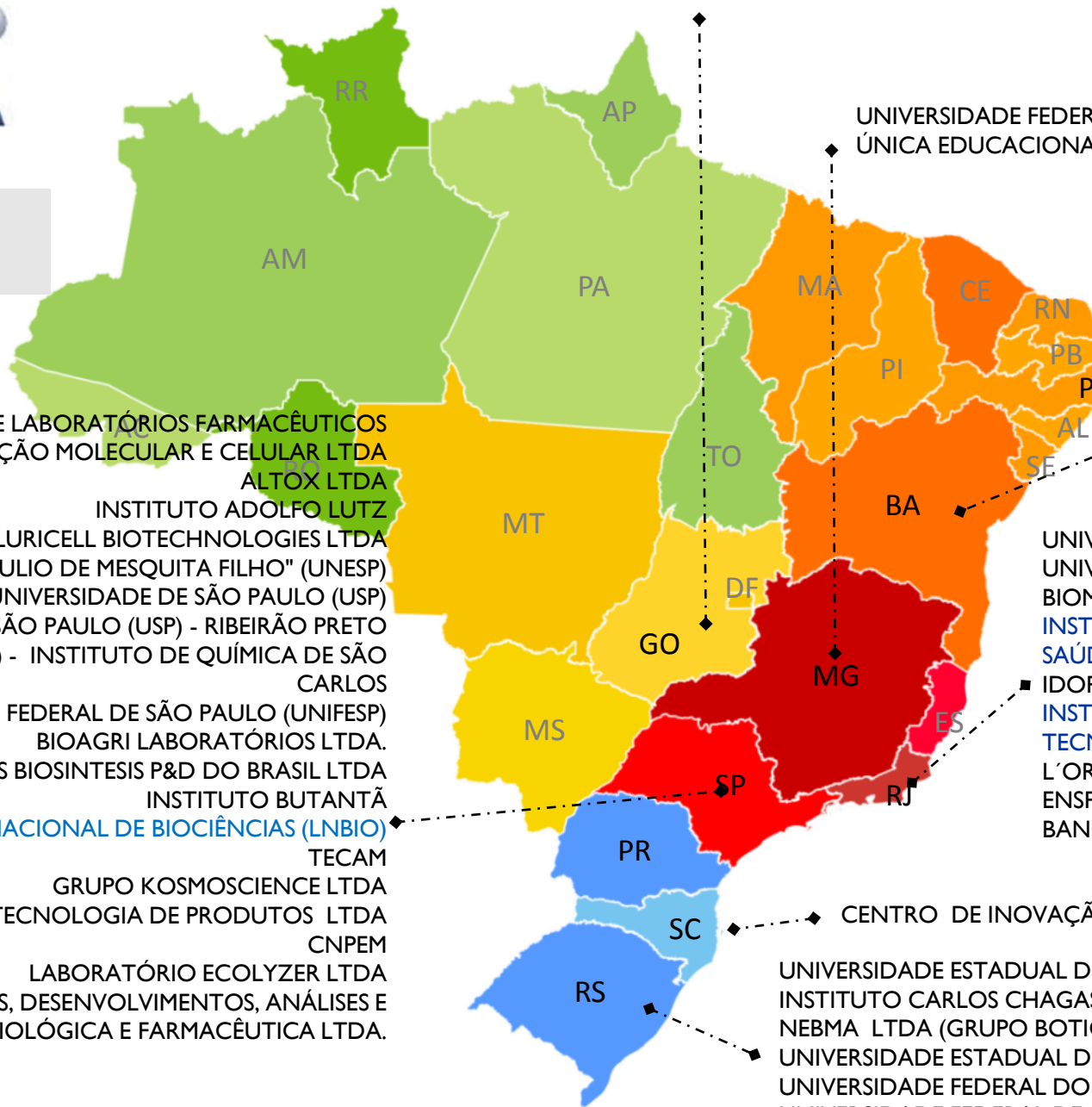
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA (UFBA)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO (UFRJ)  
UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE (UFF)  
BIOMANGUINHOS - FIOCRUZ  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DA QUALIDADE EM SAÚDE (INCQS)- FIOCRUZ  
IDOR – PESQUISA E ENSINO  
INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA (INMETRO)  
L'ORÉAL PESQUISA E INOVAÇÃO BRASIL  
ENSP – FIOCRUZ  
BANCO DE CÉLULAS DO RIO DE JANEIRO (BCRJ)

CENTRO DE INOVAÇÃO E ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS (CIENP)

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ (UEM)  
INSTITUTO CARLOS CHAGAS - FIOCRUZ  
NEBMA LTDA (GRUPO BOTICÁRIO)  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA (UEL)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (UFPR)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE (UFCSPA)

ACHE LABORATÓRIOS FARMACÊUTICOS  
INVITROCELL AVALIAÇÃO MOLECULAR E CELULAR LTDA  
ALTOX LTDA  
INSTITUTO ADOLFO LUTZ  
PLURICELL BIOTECHNOLOGIES LTDA  
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO" (UNESP)  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP)  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP) - RIBEIRÃO PRETO  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP) - INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO (UNIFESP)  
BIOAGRI LABORATÓRIOS LTDA.  
LABORATÓRIOS BIOSINTESIS P&D DO BRASIL LTDA  
INSTITUTO BUTANTÃ  
LABORATÓRIO NACIONAL DE BIOCÍNCIAS (LNBIO)  
TECAM  
GRUPO KOSMOSCIENCE LTDA  
NATURA INOVAÇÃO E TECNOLOGIA DE PRODUTOS LTDA  
CNPEM  
LABORATÓRIO ECOLYZER LTDA  
T&E ANALÍTICA - CENTRO DE PESQUISAS, DESENVOLVIMENTOS, ANÁLISES E CONSULTORIA QUÍMICA, BIOLÓGICA E FARMACÊUTICA LTDA.

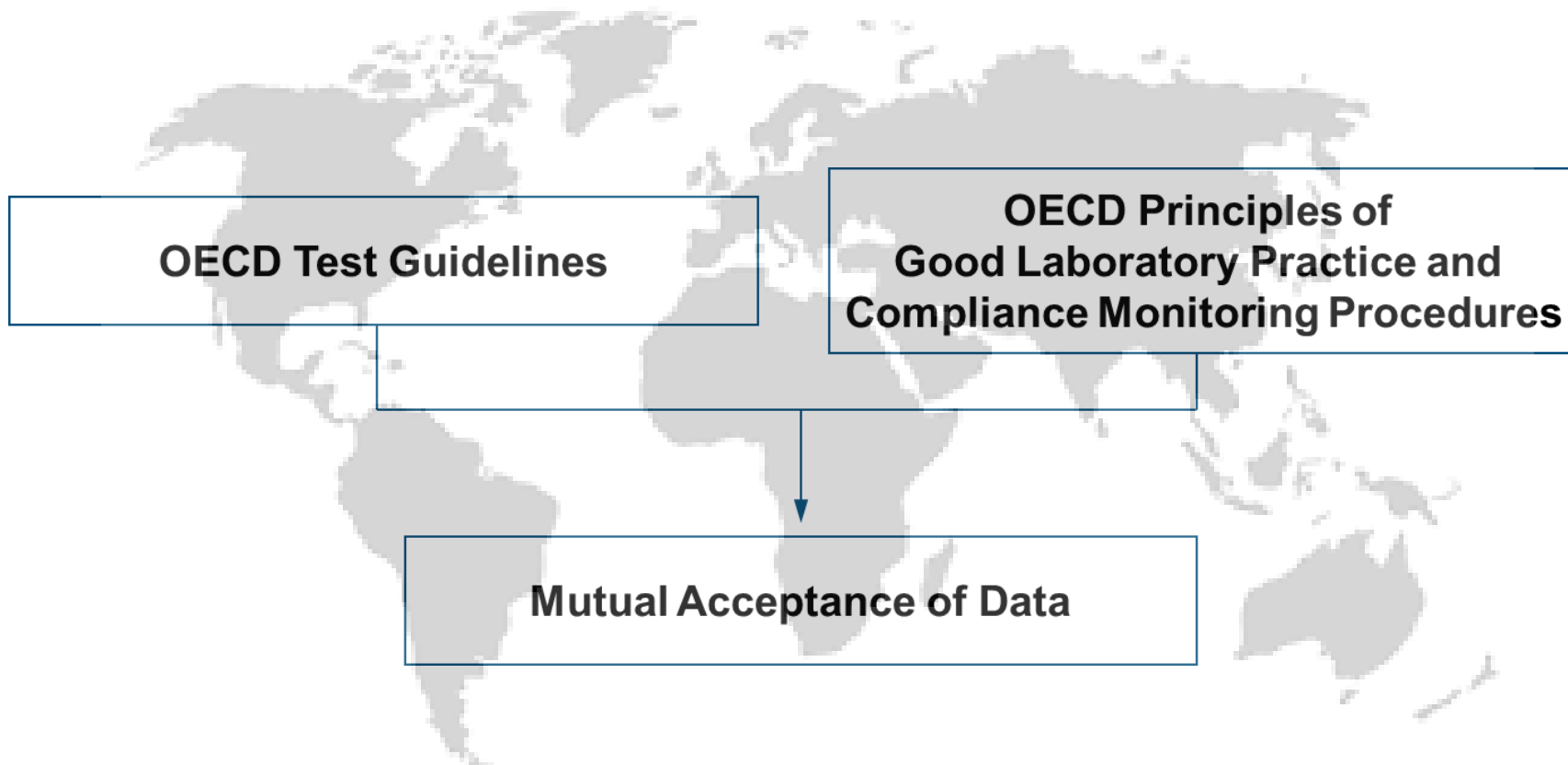




➤ **CONCEA – National Council for the Control of Animal Experimentation**

- *Normative Resolution no. 18/2014*
- *Normative resolution no. 31/2016*

- ✓ **Irritação/corrosão cutânea:** OECD TG 430, 431, 435, and 439;
- ✓ **Corrosão ocular:** OECD TG 437, 438, and 460;
- ✓ **Fototoxicidade:** OECD TG 432;
- ✓ **Absorção Cutânea:** OECD TG 428;
- ✓ **Sensibilização cutânea:** OECD TG 429, 442A, and 442B; OECD TG 442C, and 442D
- ✓ **Acute Toxicity:** OECD TG 420, 423, 425, and 129\*;
- ✓ **Genotoxicidade:** OECD TG 487
- ✓ **Irritação ocular:** OECD TG 491, and 492;
- ✓ **Reproduction/Developmental Toxicity:** OECD TG 421, and 422;\*



> Biodiversity, water and natural resource management

> Chemical safety and biosafety

> 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

## OECD Guidelines for the Testing of Chemicals

### What's new

On 25 June, OECD adopted a set of new and updated Test Guidelines for chemicals safety testing.

Those include two new Test Guidelines on *in vitro* methods for fish hepatic clearance, [TG 319A](#) and [TG 319B](#) that can be used to improve *in silico* predictions of the test chemical bioaccumulation in fish.

Important updates to existing Test Guidelines encompass the inclusion of endocrine-related endpoints in [TG 408](#) (90-d repeated dose toxicity study) and [TG 414](#) (Developmental toxicity study); also Test Guidelines in the area of eye irritation and skin sensitisation have been revised to either improve predictivity of the existing method ([TG 438](#), isolated chicken eye method) or include similar methods to those already existing (me-too methods in [TG 442B](#), [TG 442D](#), [TG 492](#)) ensuring more readily usable practical matter by members and [Mutual Acceptance of Data \(MAD\) adhering countries](#).

A few other Test Guidelines have been slightly amended as well and can be accessed from the sections mentioned below:



















- > [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](#)

A set of supporting documents and Guidance Documents associated to these Test Guidelines will soon be published, stay tuned!



1 - 20 of 77 results

1 2 3 4 | Next >


Mark		∧ Date	∧ Title	Click to Access
 >		21 Jul 1997	Test No. 486: Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells in vivo OECD	 PDF  READ
 >		23 Oct 1986	Test No. 485: Genetic toxicology, Mouse Heritable Translocation Assay OECD	 PDF  READ
 >		23 Oct 1986	Test No. 484: Genetic Toxicology: Mouse Spot Test OECD	 PDF  READ
 >		23 Oct 1986	Test No. 482: Genetic Toxicology: DNA Damage and Repair, Unscheduled DNA Synthesis in Mammalian Cells in vitro OECD	 PDF  READ
 >		23 Oct 1986	Test No. 481: Genetic Toxicology: Saacharomyces cerevisiae, Miotic Recombination Assay OECD	 PDF  READ
 >		23 Oct 1986	Test No. 480: Genetic Toxicology: Saccharomyces cerevisiae, Gene Mutation Assay OECD	 PDF  READ



	Sistema teste	Equipamento crítico
Irritação/corrosão cutânea		
TG 431/TG 439	Equivalente de Epiderme Humana	Cabine de biossegurança; Incubadora de CO2; Leitora de absorvância(espectrofotômetro)
TG 430	Discos de pele de ratos wistar ( Animals are humanely killed when 28-30 days old; this age is critical)	Aparato específico no anexo do TG; Equipamento específico para medir resistência elétrica;
TG 435	Corrositex® = biobarreira de macromolecular sintética + sistema de detecção de químicos (CDS)	nenhum
Corrosão ocular		
TG 437	córnea bovina	Opacitômetro e leitor de absorvância (espectrofotômetro)
TG 438	olho de galinha (completo)	Aparato específico no anexo do TG; Equipamento específico
TG 460	linhagem celular MDCK	Cabine de biossegurança; Incubadora de CO2; Leitora de absorvância(espectrofotômetro)
Fototoxicidade		
TG 432	linhagem celular 3T3 balb/c	Cabine de biossegurança; Incubadora de CO2; Leitora de absorvância(espectrofotômetro). Simulador solar.

Absorção cutânea		
TG 428	pele porcina ou humana	células de franz; HPLC
Sensibilização cutânea		
TG 442E	linhagem celular THP-1 ou U937	Citômetro de fluxo
	linhagem THP-G8 (modificada geneticamente -expressa IL-8)	Luminômetro
TG 442C	Preparado proteico (peptídeos sintéticos)	HPLC detector de U.V.
Toxicidade Aguda oral		
GD 129	linhagem celular 3T3 balb/c	Cabine de biossegurança; Incubadora de CO <sub>2</sub> ; Leitora de absorbância (espectrofotômetro)
Genotoxicidade		
TG 487	<p>Cultured primary human or other mammalian peripheral blood lymphocytes and a number of rodent cell lines such as CHO, V79, CHL/IU, and L5178Y cells or human cell lines such as TK6 can be used. Other cell lines such as HT29, Caco-2, HepaRG, HepG2 cells, A549 and primary Syrian Hamster Embryo cells have been used for micronucleus testing but at this time have not been extensively validated. Therefore the use of those cell lines and types should be justified based on their demonstrated performance in the test, as described in the Acceptability Criteria section. Cyto B was reported to potentially impact L5178Y cell growth and therefore is not recommended with this cell line (23). When primary cells are used, for animal welfare reasons, the use of cells from human origin should be considered where feasible and sampled in accordance with the human ethical principles and regulations.</p>	Cabine de biossegurança; Incubadora de CO <sub>2</sub> ;

Irritação Ocular		
TG 491	Linhagem celular da córnea de coelho (SIRC)	Cabine de biossegurança; Incubadora de CO <sub>2</sub> ; Leitora de absorvância (espectrofotômetro)
TG 492	Equivalente de epitélio córneo humano	Cabine de biossegurança; Incubadora de CO <sub>2</sub> ; Leitora de absorvância (espectrofotômetro)

	<b>GUIA PARA AS AUTORIDADES DE MONITORAMENTO DE BPL ORIENTAÇÃO REVISADA PARA A CONDUÇÃO DE INSPEÇÕES DE LABORATÓRIO E AUDITORIAS DE ESTUDO</b>	<b>NORMA Nº NIT-DICLA-044</b>	<b>REV. Nº 03</b>
		<b>APROVADA EM SET/2011</b>	<b>PÁGINA 01/15</b>


## SUMÁRIO

- 1 Objetivo
- 2 Campo de Aplicação
- 3 Responsabilidade
- 4 Histórico da revisão
- 5 Documentos Complementares
- 6 Siglas
- 7 Considerações Gerais

**Anexo - Documento nº 3 OECD – “Guidance for Monitoring Authorities – Revised Guidance for the Conduct of Laboratory Inspections and Study Audits”, Paris 1995**

## 1 OBJETIVO

Esta Norma estabelece o procedimento a ser utilizado pelos inspetores/especialistas da Cgcre para realizar a inspeção de instalações de teste e/ou em auditorias de estudo, visando o reconhecimento da conformidade destas instalações aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL.

	<b>PRINCÍPIOS DAS BPL E ESTUDOS <i>IN VITRO</i></b>	<b>NORMA N° NIT-DICLA-071</b>	<b>REV. N° 00</b>
		<b>APROVADA EM SET/2016</b>	<b>PÁGINA 01/14</b>

## SUMÁRIO

- 1 Objetivo
- 2 Campo de Aplicação
- 3 Responsabilidade
- 4 Documentos Complementares
- 5 Siglas
- 6 Considerações Gerais

**Anexo – Versão Brasileira da Publicação OECD Number 14 - “*The Application of the Principles of GLP to in vitro Studies*” 2004**

## **NIT-DICLA-071 - PRINCÍPIOS DAS BPL E ESTUDOS IN VITRO**

### *Objetivo deste documento*

*O objetivo deste documento é facilitar a aplicação e a interpretação corretas dos Princípios das BPL para a organização e a gestão de estudos in vitro. Além disso, o documento visa fornecer orientações para a aplicação adequada dos Princípios das BPL a tais estudos, tanto para as instalações de teste (gestão, GQ, pessoal e diretor de estudos) quanto para as autoridades nacionais de monitoramento da conformidade às BPL.*

*Este documento pretende fornecer interpretação adicional dos Princípios, bem como orientações quanto a sua aplicação aos estudos in vitro realizados para fins de regulamentação. Ele se organiza de forma a constituir uma referência fácil para os Princípios das BPL seguindo as diferentes partes desses Princípios.*

## **NIT-DICLA-071- PRINCÍPIOS DAS BPL E ESTUDOS *IN VITRO***

Set/2016 (OECD 2004)

**DEFINIÇÃO:** *Estudos in vitro* são estudos que não usam organismos multicelulares completos, mas micro-organismos ou material isolado de tais organismos completos ou simulações deles como **sistemas-teste**.

## **NIT-DICLA-037-APLICAÇÃO DOS PRINCÍPIOS DE BPL A ESTUDOS DE CURTA DURAÇÃO**

Set/2011 (OECD 1999)

**DEFINIÇÃO:** “*um estudo de curta duração com técnicas de rotina, amplamente usadas*”. Estudos biológicos de curta duração incluem estudos de toxicidade aguda, alguns estudos de mutagenicidade e estudos ecotoxicológicos agudos.



## NIT-DICLA-071 - PRINCÍPIOS DAS BPL E ESTUDOS *IN VITRO*

- **DEFINIÇÕES: Item (Substância) de referência**
- **Em muitos casos, os guias de testes envolvendo estudos *in vitro* exigem o uso de controle positivos, negativos e/ou veículo.**
- *No entanto, tais itens podem não corresponder à definição das BPL para "itens de referência" quanto ao grau de resposta do sistema-teste para a substância-teste, mas sim quanto ao desempenho do sistema-teste.*
- *Já que o objetivo desses itens de controle positivos, negativos e/ou do veículo pode ser considerado análogo ao objetivo de um item de referência, a definição deste último pode ser considerada com abrangência também aos termos "itens de controle positivos, negativos e/ou do veículo".*
- **Contudo, a extensão em que eles deveriam ser caracterizados analiticamente pode diferir dos requisitos dos itens de referência.**

### NIT-DICLA-035

#### 2.4 Definições relacionadas à Substância Teste

1. Substância teste é o objeto sob investigação em um estudo.

2. **Substância de Referência ("item de controle") é qualquer item usado para prover uma base de comparação com a substância teste.**

## Responsabilidades

### a) Gestão da instalação de teste

A maior parte das responsabilidades da gerência da instalação de teste é de caráter geral, sendo igualmente aplicável aos estudos *in vivo* e *in vitro*. Como exemplo, há o requisito de que a gerência da instalação de teste deve assegurar a disponibilidade de pessoal qualificado e instalações/equipamentos adequados para a correta realização do estudo.

No entanto, convém à gerência da instalação de teste saber que os testes *in vitro* poderão influenciar em algumas responsabilidades: por exemplo, **a gerência deve assegurar que o pessoal compreenda claramente as funções a serem desempenhadas.**

**garantia de treinamento específico em procedimentos de assepsia e na manipulação de materiais com riscos biológicos.**

**“disponibilidade de áreas especializadas e da implementação de procedimentos de combate à contaminação dos sistemas-teste. Outro exemplo é a exigência de que a gerência da instalação de teste garanta que os suprimentos atendam aos requisitos adequados ao uso em um estudo. Certos estudos *in vitro* podem exigir o uso de materiais patenteados ou kits de teste. Embora o documento Fornecedores e os Princípios de BPL declare que os materiais a serem usados em um estudo de conformidade de BPL devem ser produzidos e testados com um sistema de qualidade apropriado que avalie sua adequação, imputando a responsabilidade primária pela adequação ao fabricante ou fornecedor, **cabe à gerência da instalação de teste confirmar o devido cumprimento de tais condições pela avaliação das práticas, procedimentos e políticas dos fornecedores”****

## **Responsabilidades**

### **b) Diretor de estudos**

*As responsabilidades gerais do diretor independem do tipo de estudo e as responsabilidades mencionadas nos Princípios também se aplicam a estudos in vitro. O diretor continua a ser o único ponto de controle do estudo, assumindo a responsabilidade pela realização e pelo relato geral do estudo.*

*“Nos estudos in vitro, convém ao diretor de estudo dedicar **atenção especial à documentação da justificativa e da caracterização do sistema-teste**” Tal atividade pode ser mais desafiadora nos estudos in vitro.*

*Nos estudos in vivo, essas atividades costumam ser simples. Por exemplo, o uso de uma determinada espécie pode ser justificado pela documentação das características que a tornam um modelo adequado para avaliar o efeito de interesse. A caracterização de um animal em particular pode ser realizada pela simples documentação relativa a espécies, linhagem, sublinhagem, fonte de abastecimento, número, faixa de peso corporal, sexo e idade.*

## Responsabilidades

### b) Diretor de estudos

*Essas atividades necessárias podem ser mais desafiadoras em estudos in vitro:*

*A justificativa do sistema-teste pode exigir que o diretor de estudos documente a validação do método de teste ou que tal método é estrutural, funcional e/ou mecanicamente semelhante a um método padronizado. **Antes de usar novo método semelhante a um método de teste padronizado, convém ao diretor de estudo fornecer evidência documentada de que o novo método de teste apresenta desempenho comparável quando avaliado com itens de referência adequados.***

*Documentar as características dos sistemas in vitro também pode ser complicado. Embora o **diretor de estudo possa documentar algumas características do sistema-teste com a ajuda do fornecedor (ex., linhagem celular, idade/passagem, origem), ele também deve caracterizar o sistema-teste, através de documentos, que este fornece o desempenho exigido ao ser avaliado com itens de referência adequados, incluindo controles positivos, negativos, não tratados e/ou do veículo, quando necessário.***

***EX.: Linhagem celular X e sua resposta ao longo das passagens ao controle positivo e/ou negativo***

## Responsabilidades

### b) Diretor de estudos

Um exemplo de caso especial é o **uso de materiais patenteados ou kits de teste na realização de estudos in vitro.**

Embora convenha ao *fornecedor, produtor ou detentor da patente assegurar o desempenho* de tais materiais ou kits de teste, e embora a *gerência da instalação de teste seja responsável por garantir que o fornecedor atenda aos critérios de qualidade conforme mencionado (por exemplo, ao avaliar as práticas, procedimentos e políticas do fornecedor),*

**cabe ao diretor de estudo assegurar que o desempenho desses materiais ou kits atenda de fato aos requisitos do estudo, bem como garantir a adequação e a devida validação dos kits de teste para sua finalidade.**

Como a qualidade e a confiabilidade dos resultados do estudo serão influenciados diretamente pela qualidade e pelo desempenho desses materiais ou kits de teste, **é extremamente importante que o diretor de estudo examine com cuidado e avalie criticamente a integridade e a aceitabilidade da documentação referente ao controle de qualidade apresentada pelo fornecedor.**

**O diretor de estudo deve, no mínimo, estar apto a julgar a adequação do sistema da qualidade usado pelo fabricante, devendo também dispor de toda a documentação necessária para avaliar a aptidão para uso do sistema de teste (por exemplo, resultados de estudos de desempenho/proficiência).**

## **Responsabilidades**

### **c) Pessoal de estudo**

**Quando aplicável, o pessoal deve observar cuidadosamente os requisitos para as condições de assepsia e seguir os respectivos procedimentos na realização de estudos in vitro para evitar a contaminação por patógeno ao sistema-teste.**

**Da mesma forma, o pessoal deve empregar práticas adequadas para evitar a contaminação cruzada entre os sistemas-testes e garantir a integridade do estudo.**

**O pessoal de estudo deve conhecer e respeitar estritamente as exigências para isolar os sistemas de testes e estudos envolvendo materiais que apresentem riscos biológicos.**

**Durante os estudos in vitro, também deve haver precauções adequadas para minimizar os riscos provenientes do uso de produtos químicos perigosos.**

## **Responsabilidades**

### **d) Garantia da qualidade**

*Em geral, as atividades de Garantia da Qualidade (GQ) não diferem muito entre estudos in vitro e in vivo.*

*Como os Princípios de BPL **exigem que a GQ inspecione especialmente as fases críticas de um estudo, é importante que, no caso dos estudos in vitro, a GQ esteja ciente do que constitui as fases críticas (e aspectos críticos) de tais estudos.***

***Convém desenvolver procedimentos orientativos correspondentes às inspeções da GQ em cooperação com os diretores de estudo, pesquisadores principais e pessoal de estudo nas áreas relevantes.***

*Já que o programa de GQ deve abranger explicitamente aspectos específicos de testes in vitro sempre que indicado, **a formação e o treinamento do pessoal da GQ também devem ser explicitamente dirigidos à capacidade de reconhecer possíveis problemas em áreas específicas de testes in vitro.***



## **Responsabilidades**

### **d) Garantia da qualidade**

As áreas específicas a serem inspecionados poderão incluir, mas não se limitar, os procedimentos e medidas para:

- **monitorar os lotes de componentes dos meios de cultura de células e tecidos que são críticos para o desempenho do sistema de teste** (por exemplo, soro fetal bovino, etc.) e outros materiais com relação a sua influência no desempenho do sistema de teste;
- **avaliar e garantir a condição (e a integridade) funcional e/ou morfológica de células, tecidos e outros materiais indicadores;**
- **monitorar a possível contaminação por células estranhas, micoplasma e outros patógenos ou agentes adventícios, conforme o caso;**
- **limpar e descontaminar as instalações e equipamentos, minimizando fontes de contaminação de substâncias-teste e sistemas de teste;**
- **garantir que os equipamentos especializados sejam adequadamente usados e recebam manutenção adequada;**
- **garantir a criopreservação e a reconstituição adequadas de células e tecidos;**
- **garantir condições adequadas para a recuperação de materiais de armazenamento congelado;**
- **garantir a esterilidade de materiais e insumos usados para culturas de células e tecidos;**
- **manter a separação adequada entre os diferentes estudos e sistemas de teste.**

## **Instalações**

### **a) Geral**

Os Princípios das BPL determinam que as instalações de teste sejam adequadas para atender aos requisitos dos estudos nelas executados, além de estipularem um nível adequado de separação entre as diferentes atividades para garantir a realização adequada e tranquila de cada estudo. Como os estudos *in vitro*, em geral, ocupam um espaço limitado e normalmente não requerem instalações específicas que excluam a realização de outros estudos, convém tomar medidas para garantir a separação adequada de estudos *in vitro* coexistentes em um ambiente físico.

### **b) Instalações de sistemas de teste**

Os Princípios das BPL exigem a disponibilidade de um **número suficiente de salas ou áreas para garantir o isolamento dos sistemas de teste; tais áreas devem ser adequadas para garantir a minimização da probabilidade de contaminação dos sistemas de teste.**

Entretanto, o termo "áreas" não é definido especificamente, e sua interpretação é adaptável a diferentes situações *in vitro*. Considerando a questão, **o mais importante é evitar que a possibilidade de contaminação, contaminação cruzada ou mistura comprometa a integridade de cada sistema de teste e estudo.**

Com isso, pode ser possível armazenar células ou tecidos pertencentes a diferentes estudos na mesma incubadora, desde que haja um grau adequado de separação (**por exemplo, identificadores adequados, etiquetagem ou disposição separada para distinguir os estudos, etc.**) e que nenhuma substância-teste seja volátil o bastante para contaminar outros estudos em andamento na mesma incubadora.

## **Instalações**

### **b) Instalações de sistemas de teste**

A separação das fases críticas do estudo pode acontecer não somente no âmbito do espaço, **mas também do tempo**.

A manipulação de culturas de células e tecidos, como procedimentos de subcultura, adição da substância-teste, etc., normalmente é realizada em (cabines de segurança biológica All) para garantir a esterilidade e proteger o sistema-teste, bem como o pessoal do estudo e o ambiente. Nessas circunstâncias, a separação adequada para evitar contaminação cruzada entre os diferentes estudos será alcançada pela **manipulação sequencial dos sistemas-teste usados nos estudos individuais, com limpeza e descontaminação/esterilização cuidadosas das superfícies de trabalho da cabine e dos equipamentos de laboratório pertinentes entre as diferentes atividades, conforme necessário**.

Outro aspecto importante **é a disponibilidade de salas ou áreas dedicadas com equipamentos especiais para o armazenamento de longa duração dos sistemas-teste. Os equipamentos, incluindo os recipientes de armazenamento, devem proporcionar condições adequadas para a manutenção da integridade de longa duração dos sistemas-teste**.

## **Instalações**

### **c) Instalações para manuseio de substância-teste e itens de referência**

Embora os requisitos dos Princípios das BPL para o manuseio de substâncias-teste e itens de referência se apliquem igualmente a testes *in vitro* quanto à prevenção de contaminação cruzada, outro aspecto deve ser considerado:

**uma vez que a esterilidade é uma questão importante em estudos *in vitro*, convém assegurar que as salas ou áreas usadas para preparação e mistura de substâncias-teste e itens de referência com veículos sejam equipadas de modo a permitir o trabalho sob condições assépticas, protegendo o sistema-teste/estudo e minimizando a probabilidade de contaminação pela preparação de substâncias-teste e itens de referência.**

## **Equipamentos, materiais e reagentes**

Embora as exigências de rotina comumente observadas para equipamentos usados em ambientes em conformidade com as BPL se apliquem do mesmo modo aos equipamentos usados para estudos *in vitro*, **há pontos e questões específicas importantes.**

Por exemplo, para assegurar a integridade e a confiabilidade de estudos *in vitro*, é importante garantir a manutenção, o monitoramento e a calibração regulares das condições adequadas de determinados equipamentos, **como microbalanças, micropipetas, cabines de fluxo laminar de ar (Cabines de Biossegurança) ou incubadoras. Para equipamentos específicos, convém identificar os parâmetros críticos que exigem monitoramento contínuo ou fixação de valores-limite, além da instalação de alarmes.**

Os requisitos nos Princípios de BPL para reagentes quanto à rotulagem e datas de validade aplicam-se igualmente aos usados para estudos *in vitro*.

## Sistemas-teste

Sistemas-teste *in vitro* **são essencialmente sistemas biológicos**, embora alguns dos testes convencionais *in vivo* (como matrizes genéticas para ensaios toxicogenômicos) também possam apresentar alguns atributos de sistemas-testes físico-químicos, enquanto outros, como testes metabolômicos aplicados à toxicologia, podem basear -se principalmente na metodologia analítica. **Os kits de teste, incluindo kits patenteados de teste, também devem ser considerados como sistemas-teste.**

### *a) Condições para sistemas-teste*

*Assim como em qualquer outro sistema-teste biológico, convém definir, manter e monitorar condições adequadas para garantir a qualidade e a integridade do sistema-teste durante o armazenamento e dentro do próprio estudo.*

*Isso inclui a definição, a manutenção e o monitoramento documentados sobre a viabilidade e a capacidade de resposta do sistema-teste, incluindo o registro do número de passagens das células e tempos de duplicação da população.*

## Sistemas-teste

### *a) Condições para sistemas-teste*

Além disso, **convém manter os registros das condições ambientais** (ex., o nível de nitrogênio líquido em um sistema de armazenamento a baixa temperatura com nitrogênio líquido, temperatura, umidade e concentração de CO<sub>2</sub> em incubadoras, etc.), **bem como de qualquer manipulação do sistema-teste necessária para a manutenção de sua qualidade e integridade** (ex. o tratamento com antibióticos ou antifúngicos, subcultura ou cultura seletiva para reduzir a frequência de eventos espontâneos).

**Como a manutenção de condições ambientais adequadas durante o armazenamento dos sistemas-teste pode influenciar a qualidade dos dados em maior grau do que para outros sistemas biológicos, esses registros podem ser de importância especial na manutenção da qualidade e confiabilidade dos dados**



## Sistemas-teste

### ***b) Sistemas-teste recém-recebidos***

**Convém analisar e manter nos registros de estudo a documentação obtida pelo fornecedor de sistemas-teste *in vitro* (como a origem, idade/número de passagens, tempo de duplicação celular e outras características relevantes que ajudem a identificar o sistema-teste). Critérios predefinidos devem ser usados para avaliar viabilidade, adequação (ex., condição funcional e/ou morfológica das células e tecidos, testes para contaminantes microbianos ou virais conhecidos ou suspeitos) e capacidade de resposta do sistema-teste.**

Os resultados dessas avaliações devem ser documentados e mantidos nos registros do estudo. Se tal avaliação não for possível (por exemplo, com culturas de células primárias ou "órgãos reconstituídos"), **convém haver um mecanismo entre o fornecedor e o usuário para verificar e documentar a adequação do sistema-teste.**

O monitoramento e o registro do desempenho **contra itens de controle positivos e negativos podem constituir prova suficiente para determinar a responsividade de um determinado sistema-teste.** Qualquer problema com o sistema-teste que possa afetar a qualidade, validade e confiabilidade do estudo deve ser documentado e discutido no relatório final. Convém levar ao conhecimento do fornecedor os problemas com sistemas-teste supridos para que haja ações corretivas.

## Sistemas-teste

### *c) Registros dos sistemas-teste*

Os Princípios de BPL exigem a **manutenção de registros de origem, data de chegada e condição de chegada de sistemas-teste; para células e tecidos, esses registros devem incluir não apenas a fonte imediata (como fornecedor comercial), mas também a fonte original de obtenção das células ou os tecidos (ex. células ou tecidos primários com características do doador; linhagens celulares estabelecidas a partir de fontes reconhecidas, etc.).**

As informações a serem mantidas também podem incluir, entre outras, **o método de obtenção original das células ou tecidos (ex., explantes de tecidos, biópsias de tecidos normais ou cancerígenos, transferência de genes por transfecção do plasmídeo ou transdução de vírus, etc.), a cronologia de custódia, o número de passagens de linhagens celulares, condições de cultura e intervalos de subcultura, condições de congelamento/descongelamento, etc. Além disso, para os sistemas-teste de transgênicos, é necessário verificar a natureza do transgene e monitorar a manutenção da expressão com controles adequados.**

## Sistemas-teste

### c) *Registros dos sistemas-teste*

É necessário dar atenção especial à rotulagem adequada dos sistemas-teste durante o armazenamento e o uso, o que inclui medidas para garantir a **durabilidade da rotulagem**.

Sempre deve haver medidas para garantir a identificação correta de sistemas-teste, principalmente quando o tamanho dos recipientes e as condições de armazenamento (**por exemplo, tubos de congelamento em nitrogênio líquido, sistemas-teste múltiplos armazenados em um recipiente**) são fatores críticos para a rotulagem.

Os requisitos relacionados aos Princípios das BPL para substâncias-teste e reagentes com relação à rotulagem **e datas de validade aplicam-se igualmente aos kits de teste usados como sistemas-teste *in vitro***.

Deve haver uma data de validade para os kits de teste, se usados como sistemas-teste ou de qualquer outra forma para fins de análise, por exemplo. A extensão dessa data de validade pode ser aceitável somente como avaliação (ou análise) documentada.

## Sistemas-teste

### *c) Registros dos sistemas-teste*

**Para os kits de teste usados como sistemas-teste, a avaliação documentada pode consistir no registro** histórico das respostas observadas, obtido com o respectivo lote do kit de teste para itens de controle positivos, negativos e/ou do veículo, além da prova de que, mesmo após a data de validade, a resposta não se afastou dos valores históricos de controle.

**Uma decisão documentada do diretor de estudos quanto à prorrogação da data de validade deve apresentar evidências para o processo de avaliação.**

Para evitar possíveis confusões, a nomenclatura dos sistemas-teste deve ser claramente definida, e seus rótulos (assim como todos os registros obtidos a partir de estudos individuais) devem ostentar a designação de uma aceitação formal do sistema-teste.

## **Itens (substância) de teste e de referência (incluindo itens de controle negativos e positivos)**

*Em geral, não há requisitos específicos para recepção, manuseio, amostragem, armazenamento e caracterização de itens de teste e de referência empregados em estudos que usam sistemas-teste in vitro, além dos listados nos Princípios de BPL. Todavia, **pode haver exigências quanto às condições assépticas no tratamento para evitar a contaminação microbiana de sistemas-teste.***

***Para itens de controle negativos, positivos e de veículo, talvez seja necessário determinar a concentração e a homogeneidade, uma vez que pode ser suficiente fornecer evidências para a resposta correta esperada do sistema-teste.***

*A data de validade desses itens de controle também pode ser prorrogada por avaliação ou análise documentada. Essa avaliação pode consistir em evidências documentadas de que a resposta dos respectivos sistemas-teste para esses itens de controle positivos, negativos e/ou do veículo não se afasta dos valores históricos de controle registrados na instalação de teste, que deve ser comparável aos valores de referência publicados (!!!).*

## Procedimentos Operacionais Padrão (POPs)

Além dos exemplos citados nos Princípios de BPL, algumas atividades e processos específicos para testes *in vitro* devem ser descritos em Procedimentos Operacionais Padrão. Portanto, os POPs devem estar disponíveis, entre outros, para os **exemplos ilustrativos a seguir** quanto às atividades da instalação de teste relacionadas com testes *in vitro*.

### **a) Instalações**

Monitoramento ambiental quanto aos agentes patogênicos no ar e em superfícies, limpeza e desinfecção, procedimentos em caso de infecção ou contaminação nas instalações ou áreas de teste.

### **b) Equipamentos**

Uso, manutenção, monitoramento de desempenho, limpeza e descontaminação de equipamentos e instrumentos de cultura de células e tecidos, como cabines de fluxo laminar e incubadoras; monitoramento dos níveis de nitrogênio líquido em recipientes de armazenamento, calibração e monitoramento da temperatura, umidade e níveis de CO<sub>2</sub> em incubadoras.

### **c) Materiais, reagentes e soluções**

Avaliação da adequação, extensão de datas de validade, análise e manutenção da esterilidade, triagem dos contaminantes patogênicos comuns; descrição dos procedimentos de seleção e uso dos veículos; procedimentos de verificação de compatibilidade dos veículos com o sistema-teste.

## ***Procedimentos Operacionais Padrão (POPs)***

### ***d) Sistemas-teste***

Condições de armazenamento e procedimentos de congelamento e descongelamento de células e tecidos, testes de patógenos comuns; inspeção visual de contaminações; procedimentos de verificação (ex., uso de critérios de aceitação) para garantir as propriedades e a responsividade na chegada e durante o uso, imediatamente após a chegada ou após armazenamento, avaliação morfológica, controle da estabilidade do fenótipo ou do cariótipo, controle de estabilidade do transgene; modo de início de cultura, condições de cultura com intervalos de subcultivo; manuseio de materiais que apresentam risco biológico e dos sistemas-teste; procedimentos para o descarte dos sistemas-teste.

### ***e) Desempenho do estudo***

Técnicas assépticas, critérios de aceitação para a validade do estudo, critérios de repetições da análise.

### ***f) Garantia da qualidade***

Definição das fases críticas, frequências de inspeção.

## **Desempenho e Relatório de Resultados do Estudo**

*Os requisitos relacionados aos princípios das BPL para a realização de estudos in vitro são idênticos aos previstos para os estudos mais convencionais de segurança. Em muitos casos, o documento Aplicação dos Princípios de BPL a Estudos de Curta Duração pode ser consultado com os Princípios da OCDE de BPL para realizar os estudos in vitro em conformidade com as BPL.*

***Há uma série de questões específicas a testes in vitro que deveriam ser contempladas no plano de estudo, bem como no relatório final do estudo. Entretanto, tais questões têm natureza essencialmente científica e técnica, como o requisito científico de que os controles internos (controles adequados positivos, negativos, não tratados e/ou de veículos), realizados para controle de desvios e avaliação do desempenho do sistema-teste, deveriam ser realizados concomitantemente com a substância-teste em todos os estudos in vitro.***

***Há orientações mais específicas quanto aos tópicos a serem considerados no plano de estudo e no relatório final nos respectivos guias da OCDE ou em outras referências apropriadas.***



## **Armazenamento e retenção de registros e materiais**

Os requisitos gerais relacionados à retenção estabelecidos nos Princípios das BPL são igualmente aplicáveis a estudos *in vitro*. Além disso, **deve-se considerar a retenção de amostras de sistemas-teste que necessitam ser conservados em longa duração, principalmente sistemas-teste de disponibilidade limitada (como subclones especiais de linhagens de células, células transgênicas, etc.) para permitir a confirmação da identidade do sistema-teste e/ou para reconstruir o estudo.**

**Também deve ser considerada a retenção de amostras das substâncias-teste para os estudos *in vitro* que possam ser categorizados como estudos de curta duração, especialmente nos casos em que os estudos *in vitro* constituam grande parte dos estudos de segurança.**

**Os registros dos resultados históricos positivos, negativos, não tratados e/ou de controle do veículo usados para estabelecer a faixa de resposta aceitável do sistema-teste também devem ser mantidos.**



NIT-DICLA - 35 e COMPLEMENTARES (NIT-DICLA-71)  
NIT-DICLA - 44  
NOÇÕES METODOLOGIAS OECD



**OBRIGADA!**

[Lbbalottin@inmetro.gov.br](mailto:Lbbalottin@inmetro.gov.br)

[lbbalottin@gmail.com](mailto:lbbalottin@gmail.com)