



# ILSI Brasil

N O T Í C I A S

ANO 15 | Nº 3 | JULHO A SETEMBRO DE 2007

## Foco em Alimentos Funcionais

Acontecerá nos próximos dias 29 e 30 de novembro, no Hotel Intercontinental, em São Paulo, o III Simpósio Internacional ILSI Brasil sobre Alimentos Funcionais, com coordenação científica do Prof. Franco Lajolo (USP). Especialistas nacionais e internacionais discutirão todo o contexto que cerca o assunto Alimentos Funcionais na atualidade, munidos de ricas experiências. Principais temas a serem abordados:

- Alimentos funcionais dentro do contexto dos hábitos alimentares brasileiros
- Alimentos funcionais na melhoria da saúde pública: passado e futuro
- Saúde cardiovascular e dieta
- Interação entre antioxidantes em alimentos funcionais
- Biomarcadores em imunologia
- Atualização sobre fibras
- Importância do índice glicêmico em saúde pública
- A Ciência do comportamento alimentar: fatores que influenciam as escolhas do consumidor
- O desafio da comunicação: como desenvolver mensagens com impacto positivo nas escolhas do consumidor
- Alimentos funcionais, perfis de nutrientes e alimentação equilibrada
- Embasamento científico das alegações funcionais e de saúde nos EUA e Canadá
- Estágio das discussões na Europa
- Processo para avaliação de alegações de propriedades funcionais e/ou de saúde no Brasil
- Acompanhamento pós-Marketing (apresentação de dois estudos de caso)

Alguns dos palestrantes confirmados: **Catalina Barba**, Ministério da Saúde do Chile; **Inge Tetens**, The National Food Institute, Dinamarca; **Peter Jones**, University of Manitoba, Canada; **Kyung-Jin Yeum**, da Tufts University, EUA; **Elisabeth Wenzel de Menezes**, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP; **Maria Alice Altenburg de Assis**, da Universidade Federal de Santa Catarina e **Franco Lajolo**, da USP.

### Nesta Edição:

#### EDITORIAL

Expansão das forças-tarefas! 2

#### EVENTO

Rica participação 3

#### EVENTO

Ex-Ministro Roberto Rodrigues comanda conferência sobre Produção de

Alimentos X Biocombustíveis 3

#### ARTIGO

Toxicidade aguda: a contribuição dos novos

Métodos de ensaio 4

#### DESTAQUE

Biotecnologia em alta 8

#### PUBLICAÇÃO

Benefícios da Soja 8

**Atenção!**

**As inscrições devem ser feitas pelo site  
[www.ilsi.org.br/funcionais](http://www.ilsi.org.br/funcionais)**

## Diretoria/Conselho

### Presidente

Aldo Baccarin

### Diretoria

Dr. Franco Lajolo

Dr. Felix G. Reyes

Dr. Flávio A. D. Zambrone

Dra. Ione P. Lemônica

Ana Meisel

José Mauro de Moraes

Silvia Mine Yokoyama

### Diretoria Executiva

Mariela Weingarten Berezovsky

### Conselho Científico e de Administração

Aldo Baccarin – Presidente do ILSI Brasil

Ana Meisel - Kraft Foods Brasil Ltda.

Andréa Nhoato – Milênia Agro Ciências S/A

Arlinda Evaristo – Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.

Ary Bucione - Danisco Brasil S.A

Dra. Bernadette Franco - Fac. de Ciências Farmacêuticas/USP

Dra. Elizabeth de Souza Nascimento – Fac. Ciências

Farmacêuticas/USP

Dr. Felix G. Reyes – Fac. Eng. Alimentos/UNICAMP

Dr. Flávio Zambrone – Fac. Ciências Med./UNICAMP

Dr. Franco Lajolo – Fac. Ciências Farmacêuticas/USP

Gottfried Stützer Jr. – Bayer S/A

Dra. Ione P. Lemônica – UNESP/Campus Botucatu

João Alberto Bordignon – Nutrimental S/A Ind. e Com. de

Alimentos

José Mauro de Moraes – Recofarma Ind. do Amazonas Ltda.

(Coca-Cola)

Dra. Maria Cecília Toledo – Fac. Eng. Alimentos / UNICAMP

Dr. Mauro Fisberg – Univ. Federal de São Paulo

Dra. Sílvia Berlanga de Moraes Barros – Fac. Ciências

Farmacêuticas/USP

Silvia Mine Yokoyama – Monsanto do Brasil Ltda.

## Expediente

### Publicação do:

International Life Sciences Institute ILSI Brasil  
Rua Hungria, 664 Cj. 113 – 01455-904 – São Paulo-SP  
tel.: (11) 3035-5585 – e-mail: ilsibr@ilsil.org.br

**Conselho Editorial:** Clarice Tonato, Felix G. Reyes e  
Mariela Weingarten Berezovsky

**Editora Executiva:** Mariela Weingarten Berezovsky

**Redação:** Cristina Saquetin

**Produção:** DPI Studio e Editora.

Tel./Fax: (11) 3207-1617 – dpi@dpieditora.com.br

Circulação externa – Tiragem de 7.000 exemplares

Direitos reservados ao ILSI Brasil

## Editorial

# Expansão das forças-tarefas!

**G**ostaria de começar esse primeiro exemplar do semestre, compartilhando com vocês o início das atividades de mais um de nossos grupos de trabalho. Estou falando da nova Força-Tarefa de Nutrição Clínica, subordinada ao Comitê de Nutrição. A FT tem como principais objetivos: estimular a discussão de assuntos ligados às necessidades nutricionais de grupos populacionais com necessidades fisiológicas e dietoterápicas específicas e atuar como facilitador nas trocas de informações entre profissionais da saúde, academia, governo e empresas, contribuindo para que se chegue a um consenso em relação às recomendações nutricionais para os grupos específicos e a melhoria da qualidade de vida populacional. Os trabalhos da primeira atividade desta FT, que tem como coordenador científico o Dr. Dan Waitzberg, já começaram: será a elaboração de um manual sobre Indicadores de Qualidade em Terapias

Nutricionais, que visa a harmonizar o entendimento de profissionais de saúde que atuam na área de nutrição clínica. Desejamos boa sorte a todos!

Queria também reforçar nossos agradecimentos ao Dr. Roberto Rodrigues pela excelente conferência sobre “Perspectivas da Produção de Alimentos versus Biocombustível”.

Foi um sucesso e sem dúvida proporcionou aos participantes um grande enriquecimento sobre o assunto! Recebemos vários elogios, pudemos contar com a presença de diretores de nossas empresas associadas e estamos trabalhando para que a próxima conferência

seja tão boa quanto a primeira.

Não deixem de ler o artigo desta edição, elaborado por Karen Cazarin, Cristiana Corrêa e Flávio Zambrone, sobre a contribuição dos novos métodos de ensaio na toxicidade aguda.

Boa leitura!



## ILSI no mundo e no Brasil



A manutenção de um fórum permanente de atualização de conhecimentos técnico-científicos que contribuem para a saúde da população e são de interesse comum às empresas, governos, universidades e institutos de pesquisa. Este é o principal objetivo do International Life Sciences Institute (ILSI), associação sem fins lucrativos, com sede em Washington, D.C., nos Estados Unidos, e seções regionais na América do Norte, Argentina, Austrália, Brasil, Europa, Japão, México e Sudeste Asiático. É afiliado à Organização Mundial da Saúde (OMS), como entidade não-governamental e órgão consultivo da ONU para Alimentação

e Agricultura (FAO).

No Brasil, o ILSI colabora para o melhor entendimento de assuntos ligados à nutrição, segurança alimentar, toxicologia e meio ambiente, reunindo cientistas do meio acadêmico, do governo e da indústria.

# Rica participação

Gostariamos de compartilhar com vocês todos o sucesso do nosso evento que tratou de “Contaminantes formados durante o processamento de alimentos”, realizado no mês de setembro em São Paulo. Mais de 90 pessoas participaram de um amplo debate com coordenação científica da professora Maria Cecília F. Toledo, da UNICAMP. Agradecemos a presença de Lilia Masson (Universidade de Chile), Mônica Rojo (ITAL), Maria Beatriz Glória (UFMG), Forrest Bayer (Coca-Cola, EUA), Adriana Pavesi (UNICAMP) e Lígia Schreiner (ANVISA), pelas excelentes apresentações e esperamos poder contar com todos em um futuro próximo. Entre as conclusões do evento, levantou-se a possibilidade de sensibilizar governos de outros países latino-americanos sobre a importância de participar das discussões internacionais e da geração e consolidação de dados locais. ●



Adriana Pavesi, Forrest Bayer, Maria Beatriz Gloria e Ligia Schreiner

## Ex-Ministro Roberto Rodrigues comanda conferência sobre Produção de Alimentos X Biocombustíveis

ILSI Brasil está iniciando uma série de encontros periódicos para convidados especiais, com palestrantes de destaque no cenário nacional e, eventualmente, internacional, para conferências sobre temas atuais, importantes e de interesse global.

Foi com muito prazer que a diretoria do ILSI Brasil recebeu, em agosto, para a primeira conferência da série, o Dr. Roberto Rodrigues, coordenador do GV-Agro (Centro de Agronegócio da Fundação Getúlio Vargas) e ex-ministro da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Nosso convidado formado em Agronomia e Agricultura abordou o tema: “Perspectivas da Produção de Alimentos versus Biocombustível”.

Participaram do encontro membros do ILSI e diretores de empresas associadas, representando assim a cadeia produtiva alimentar brasileira. Com muito bom humor e desenvoltura, Dr.

Roberto Rodrigues, Mariela Berezovsky e Aldo Baccarin



Roberto Rodrigues tratou dos principais temas que envolvem o assunto: cenários do agronegócio mundial, mercado de biocombustíveis, principais mitos e alguns temas complementares sobre o assunto.

Ao início da conferência Dr. Roberto Rodrigues deixou clara a importância de políticas públicas adequadas para proteger o setor e ressaltou o papel relevante do ILSI Brasil nessa formulação, contribuindo com o avanço da cadeia produtiva alimentar.

Ele demonstrou ainda que, dentre os dez maiores problemas que a humanidade enfrentará daqui a dez anos, a metade deles poderá ser resolvida com a agricultura que possui um papel, cada dia mais, essencial no desenvolvimento dos povos e no crescimento do planeta. E mostrou que, atualmente, 92% do saldo comercial brasileiro é oriundo do agronegócio.

Já sobre os Biocombustíveis, Dr. Roberto afirma que o Brasil tem tudo para liderar o projeto da agroenergia: terra disponível, tecnologia e recursos humanos. Ele ministrará, através da FGV, o primeiro mestrado no mundo em agroenergia formando assim mão-de-obra especializada para comandar as usinas de açúcar daqui a alguns anos. E resalta que a agroenergia no Brasil precisa ser tratada com seriedade. Hoje o Estado não investe na tecnologia necessária para isso, por este motivo, alerta que precisamos de atores para entrar no processo fazendo assim com que o mercado se torne mais consolidado. As políticas públicas precisam guiar o setor privado sem intervir. ●

# Toxicidade aguda: a contribuição dos novos métodos de ensaio

**Karen Cristine Ceroni Cazarin<sup>1</sup>, Cristiana Leslie Corrêa<sup>1</sup>, Flávio Ailton Duque Zambrone<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>PLANITOX – The Science-based Toxicology Company

O potencial tóxico de determinada substância durante exposição aguda pode ser determinado através de diversas metodologias. O estudo de cada endpoint toxicológico se baseia na via de exposição e na resposta esperada para determinada espécie.

Diversos sistemas testes têm sido empregados e muitos outros têm sido propostos com o objetivo de propiciar maior confiabilidade na extrapolação dos dados para o homem e aumentar a confiança e reprodutibilidade do método empregado.

Os métodos tradicionais de ensaio e que são amplamente utilizados estão detalhados em protocolos de ensaio publicados principalmente pela Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (OECD) e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA).

Os ensaios de toxicidade aguda através das vias oral, dérmica e inalatória, visam estimar a resposta sistêmica e o nível de exposição para a manifestação de sinais de intoxicação e conseqüente óbito.

Para prever a intoxicação humana sistêmica, através das diversas vias de exposição, os protocolos OECD 401, 402 e 403 foram amplamente empregados por décadas. Os mesmos têm o objetivo principal de estimar a dose ou concentração letal capaz de causar óbito em 50% da população testada (Dose letal 50- DL50 ou Concentração letal - CL50).

As metodologias de ensaio para toxicidade aguda têm sofrido intensas modificações nos últimos anos. Essas alterações têm sido realizadas para que um maior número de endpoints possa ser contemplado em um único ensaio e principalmente para que os animais sejam utilizados nos estudos de maneira racional. Essa tendência segue os princípios dos 3R's, introduzido por RUSSEL e BURCH (1959) e que se baseia: 1) na redução do número de animais testados (Reduction), 2) no refinamento dos ensaios (Refinement) e 3) na substituição completa dos estudos in vivo por outras metodologias (Replacement).

Dessa forma os protocolos internacionais que anos atrás recomendavam um maior número de animais foram modificados e hoje são realizados de maneira mais direcionada e com o objetivo de

se obter maior quantidade possível de informações e respostas da exposição estudada.

## **Determinação da toxicidade aguda sistêmica**

A fim de cumprir os novos objetivos segundo princípios dos 3R's e fornecer resultados que permitam maior comparação entre as substâncias, o protocolo OECD 401 foi cancelado em 2002 e substituído por outros três protocolos que objetivam a avaliação da toxicidade sistêmica aguda oral por diferentes metodologias de ensaio e avaliação de respostas outras além da mortalidade. Os novos protocolos foram publicados pela OECD e denominados: Método de doses fixas (Fixed Dose Method- OECD 420); Toxicidade aguda de classe (Acute Toxic Class Method – OECD 423) e o Procedimento Up-and-Down (Up-and-Down Procedures- OECD 425). Estas novas metodologias adotam a avaliação da resposta in vivo após administração via oral através de sonda gástrica, procedimento conhecido como gavage, para simular a exposição acidental humana.

Os três métodos baseiam-se na exposição dos animais a uma determinada dose isolada e seqüencialmente. A princípio apenas uma dose é testada a um grupo reduzido de animais, de apenas um gênero. A administração da dose consecutiva, a outro grupo, é determinada pela observação de clara toxicidade, caracterizada pela ocorrência de sinais clínicos, estado moribundo ou morte dependendo do protocolo empregado. O número de animais que apresentou clara resposta tóxica determina a próxima etapa do ensaio, ou seja, se o próximo grupo de animais deverá ser testado: 1) com uma dose menor a anterior, 2) uma dose maior a anterior ou 3) se a resposta obtida é suficiente para finalizar o teste. Essa manobra permite que um menor número de animais por ensaio seja utilizado e evita que doses muito elevadas e que possam ultrapassar a máxima dose tolerada sejam administradas.

O nível de dose administrado é sem dúvida um dos parâmetros mais importantes e que garante a validade do teste e a determinação

da dose tóxica de acordo com cada protocolo. O método de escolha das doses foi uma das principais modificações observadas entre o tradicional protocolo OECD 401 e os novos métodos adotados para determinação da toxicidade aguda oral (OECD 420, 423 e 425). Anteriormente a escolha das doses a serem testadas era aleatória ou baseada em informações prévias da substância, porém sem respeitar nenhum intervalo específico ou limite máximo de exposição. Atualmente o nível de exposição dos animais deve respeitar doses e intervalos de dose (slope factor) estabelecidos em protocolo. Assim, dados sobre a identidade da substância, propriedades físico-químicas, resultados de outros testes in vivo ou in vitro, dados de literatura, dados toxicológicos de substâncias com similaridade estrutural ou do mesmo grupo químico podem ser úteis na escolha da dose inicial. Porém as recomendações da dose inicial são diferentes para cada método adotado.

As observações a serem realizadas durante o ensaio, não se restringem à ocorrência de morte como era preconizado anteriormente no protocolo OECD 401. Cada protocolo adota a observação de um ou mais endpoints que caracterizem a toxicidade aguda, sem se restringir ao óbito. Essa modificação do protocolo tradicional foi realizada na tentativa de um melhor aproveitamento dos ensaios e animais utilizados, com o objetivo de refinar os métodos adotados. Assim, o resultado obtido nem sempre se refere exatamente a um valor de DL50 em decorrência do óbito dos animais teste, mas a uma dose tóxica categorizada de acordo com os critérios de cada protocolo. Os novos protocolos permitem, portanto, a determinação de uma faixa de DL50 que representa cada categoria de toxicidade correspondendo à própria classificação do Sistema Global Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS).

O estudo da toxicidade aguda dérmica através do método tradicional baseia-se na observação de óbito após exposição através da pele em um período de 24 horas. O método tradicional de ensaio é regido pelo protocolo 402 da OECD e consiste em expor grupos de animais a diversos níveis de dose e avaliar a ocorrência de morte em cada grupo, para determinação da DL50 dérmica. Da mesma forma, a condução de ensaio para determinar a toxicidade aguda dérmica, pode seguir as novas tendências de redução do número de animais e refinamento do método. Uma proposta com base nos princípios do Método de Doses Fixas já foi feita e apresenta-se publicada pela OECD na forma de Draft com a numeração 434. O princípio do teste, escolha da dose inicial, condução do ensaio e resultados obtidos são similares àqueles descritos para o Método de Doses Fixas na determinação de toxicidade aguda oral. Nesse caso o objetivo do estudo é identificar a ocorrência de efeitos sistêmicos evitando-se a ocorrência de morte e fornecer resultado segundo classificação padronizada do GHS. A aplicação de doses que causam dor severa devido a propriedades corrosivas ou fortemente irritantes deve ser evitada.

Para o estudo da toxicidade aguda inalatória, o método tradicional também se baseia na determinação da concentração letal 50%, com base na observação de óbitos após exposição de no mínimo 4 horas por nebulização em câmara (exposição de corpo total) ou nebulização

nasal (exposição direcionada). Novos métodos de ensaio, alternativos ao tradicional têm sido validados e já publicados pela OECD na forma de Draft. Um deles segue os princípios do Método de Doses Fixas (OECD 433, 2004) que consiste em testar os animais seqüencialmente até o aparecimento de claros sinais de toxicidade, decorrentes da exposição a uma série de doses pré-fixadas, de acordo com a natureza da substância teste: névoa, vapor, gás ou pó. Concentrações corrosivas ou severamente irritantes ao trato inalatório não devem ser administradas, por questões éticas de preservação dos animais e questões técnicas de ensaio, já que essa propriedade pode interferir no comportamento cinético da substância aumentando ou reduzindo sua absorção e distribuição no trato respiratório. Uma vez que uma das características desse método é evitar a ocorrência de morte, os resultados obtidos referem-se, não a um valor numérico de CL50, mas sim à classe toxicológica de acordo com escalonamento do GHS.

O outro segue os princípios do método de Toxicidade Aguda de Classes (OECD 436 2004), que preconiza a exposição seqüencial dos animais em concentrações capazes de causar morte ou estado moribundo.

Outro efeito sistêmico de relevância é o potencial sensibilizante de um composto. Ao contrário do que pode parecer e, apesar da exposição e da observação das respostas desse ensaio ocorrerem através da via dérmica, o estudo de sensibilização representa um endpoint sistêmico que contempla a resposta do sistema imunológico após exposições dérmicas repetidas, mais conhecida como dermatite alérgica de contato. A dermatite alérgica de contato é uma reação cutânea à substância mediada pelo sistema imune e no homem as respostas podem ser caracterizadas por prurido, eritema, edema, pápulas, vesículas, bolhas ou sua combinação. O método tradicional de ensaio para o potencial sensibilizante segue o protocolo OECD 406, e se baseia na indução dos animais (porquinhos-da-índia) com a substância teste para ativação do sistema imune. Posteriormente uma dose desafio é aplicada para verificar resposta à hipersensibilidade através de manifestações cutâneas. Este protocolo apresenta dois métodos de ensaio: o teste de Buehler (Non-adjuvant Buehler Test) e o teste de Maximização em porquinhos-da-índia (GPMT).

O princípio do teste de Buehler se baseia em realizar uma etapa de indução tópica com a aplicação dérmica oclusiva da substância teste seguida da etapa de desafio a partir também da aplicação dérmica oclusiva após intervalo de 27 dias. O teste de maximização se baseia também na indução do organismo com a substância teste e seguir a administração de uma dose desafio. Porém a primeira etapa de indução nesse método é feita através de aplicação intradérmica da substância teste acompanhada da aplicação de um adjuvante. A segunda etapa de indução consiste ainda na aplicação tópica da substância teste depois da aplicação de lauril sulfato de sódio. Em ambos os métodos, a resposta sensibilizante é caracterizada pelas observações de eritema e edema. As manobras para alteração da forma de indução no método de maximização garantem uma maior absorção da substância teste pelo organismo uma vez que na primeira indução a substância não

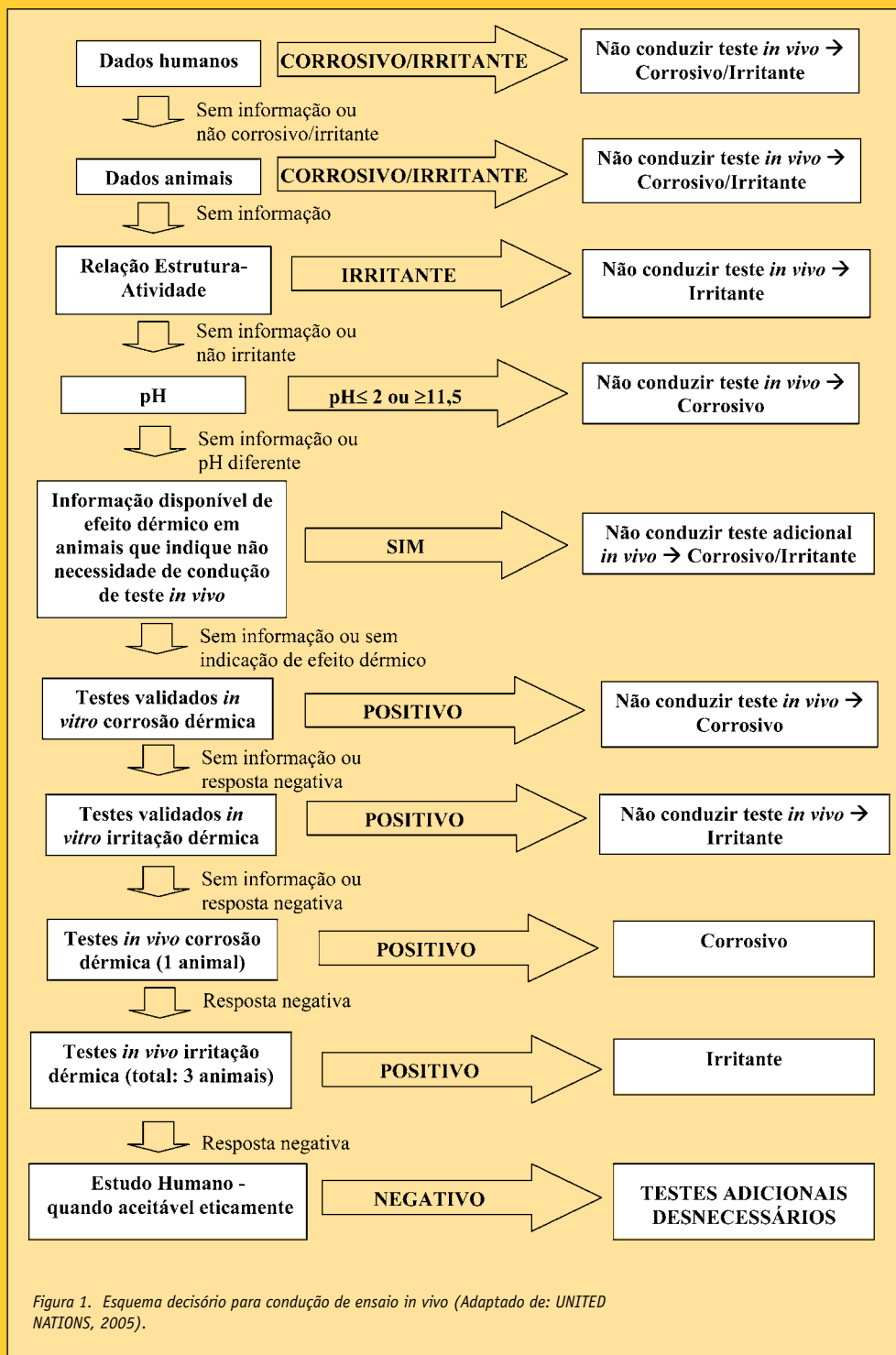


Figura 1. Esquema decisório para condução de ensaio in vivo (Adaptado de: UNITED NATIONS, 2005).

para indução no teste de maximização não é totalmente representativa da exposição humana, uma vez que esta ocorre após exposição dérmica, onde a pele exerce efeito protetor importante para penetração da substância.

Um método alternativo para avaliar o potencial sensibilizante de uma substância é o Ensaio do Linfonodo, também conhecido como LLNA (Local Lymph Node Assay). Esse método foi primeiramente recomendado como pré-teste na avaliação do potencial sensibilizante de substâncias. Atualmente o ensaio é utilizado como alternativa na determinação do potencial sensibilizante utilizando camundongos, já que é equivalente ao ensaio com porquinhos-da-índia para prever a resposta humana à dermatite alérgica de contato. O princípio do teste se baseia em avaliar a fase de indução da hipersensibilidade a partir da resposta proliferativa de linfócitos em linfonodos isolados da região de aplicação da substância teste, fornecendo uma medida quantitativa. É possível considerar o LLNA como um método mais sensível por avaliar o efeito de proliferação de linfócitos diretamente no linfonodo enquanto o teste in vivo, com porquinhos-da-índia, avalia somente a manifestação de efeitos cutâneos.

## Determinação da toxicidade aguda local/não-sistêmica

Além da toxicidade sistêmica, os efeitos locais, como o potencial irritante de determinada substância, também devem ser estimados a partir da exposição através das vias dérmica e ocular. Tradicionalmente, os métodos de ensaio utilizados para prever essas respostas são OECD

necessita penetrar na epiderme devido à via de administração (intradérmica) e na segunda indução a aplicação do tensoativo causa alteração da integridade da epiderme e facilita a penetração da substância teste. Como observado, algumas diferenças na metodologia fazem do teste de maximização um teste mais sensível para detecção de substâncias potencialmente sensibilizantes. Entretanto, a metodologia

404 e 405, respectivamente. Os métodos tradicionais de ensaio tem sido duramente criticados devido ao grande sofrimento e dor causada após manifestação dos efeitos irritantes e corrosivos. Por essa razão, os métodos tradicionais de ensaio in vivo para esses endpoints, a partir da aplicação direta sobre a pele ou olhos, têm sido modificados e validados internacionalmente.

Atualmente, métodos de ensaio alternativos para avaliação do potencial corrosivo dérmico estão disponíveis, validados e publicados pela OECD e são capazes de substituir completamente os ensaios in vivo. Esses correspondem aos protocolos OECD 430 (Ensaio de Resistência Elétrica Transcutânea-TER) e OECD 431 (Corrosão Dérmica: Modelo In vitro de Pele Humana).

O princípio do teste de resistência elétrica transcutânea (OECD 430, 2004) é aplicar a substância teste por até 24h na face da epiderme de discos de pele obtidos de ratos, dispostos em um sistema ex-vivo bicompartimental. As substâncias corrosivas são identificadas por seu potencial em causar danos ao estrato córneo através de perda de integridade e de sua capacidade de barreira.

O método de ensaio alternativo que utiliza modelos in vitro de pele humana (ex: EpiDerm®, EPISKIN®) comercialmente disponíveis, se baseia no princípio de que substâncias corrosivas têm a capacidade de reduzir a viabilidade celular. Dessa forma o princípio do ensaio baseia-se na avaliação da capacidade da substância teste em penetrar no estrato córneo do modelo de pele humana, por difusão ou erosão, e causar citotoxicidade nas camadas celulares inferiores. A conclusão se uma substância é ou não corrosiva é feita com base na avaliação quantitativa da viabilidade celular de acordo com os valores de corte estabelecidos em protocolo e o tempo de observação.

Diversos métodos alternativos de ensaio para avaliação do potencial irritante/corrosivo ocular têm sido desenvolvidos e validados internacionalmente: 1) Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) assay; 2) Isolated Chicken Eye (ICE) assay; 3) Hen's Egg Test - Chorio-allantoic Membrane (HET-CAM) assay; 4) Isolated Rabbit Eye (IRE) assay. Porém, ainda nenhum dos métodos alternativos desenvolvidos substitui integralmente o método tradicional in vivo referente ao protocolo OECD 405. Os métodos disponíveis são, portanto, muito úteis e recomendados como pré-testes, com a finalidade de evitar a condução desnecessária de ensaios in vivo com substâncias que apresentem propriedade corrosiva ou severamente irritante ocular.

Assim, os métodos alternativos para avaliação de efeitos oculares devem ser aplicados na estratégia de condução por etapas (tiered-testing) e a decisão pela condução do ensaio in vivo deve ser feita somente após a determinação da irritação dérmica e da condução de métodos in vitro sobre o potencial irritante/corrosivo ocular.

## Considerações finais sobre os métodos alternativos na avaliação da toxicidade aguda

Os novos métodos de ensaio preconizam atender os princípios dos 3R's, que visam o bem-estar animal e o uso racional de animais durante a experimentação. Considerações em relação aos níveis de dose recomendados, número de animais utilizados por ensaio, formas de exposição mais adequada, estudo prévio da substância teste, condução de testes preliminares com número reduzido de animais e adoção de pré-testes in vitro ou ex-vivo, são algumas das ações notáveis para cumprir esses objetivos éticos.

Em todos os protocolos de ensaio, as recomendações para o reconhecimento de endpoints humanitários durante a experimentação são apresentadas e regidas pelo Manual da OECD denominado "Documento Guia para o Reconhecimento, Avaliação e Uso de Sinais Clínicos como Endpoints Humanitários para Animais de Experimentação Utilizados na Avaliação de Segurança".

Para o estudo da toxicidade aguda, é preciso pensar a substância e o esquema de ensaio num todo. Ordenar a condução dos ensaios tem demonstrado grande auxílio para evitar sofrimento desnecessário e repetição de ensaios. Um exemplo disso é a avaliação prévia das propriedades físico-químicas das substâncias que antecipadamente apontam para características toxicológicas úteis durante a condução do ensaio e escolha de doses e via de exposição. Esse é o caso por exemplo de substâncias fortemente ácidas (pH 2) e alcalinas (pH  $\geq$  11,5). Nesse caso a condução do método tradicional de ensaio in vivo para avaliação do potencial irritante/corrosivo dérmico não é recomendável já que é possível prever os efeitos mesmo sem o ensaio ser conduzido. Esquemas decisórios para condução dos ensaios de toxicidade aguda e para classificação da substância quanto aos diversos endpoints agudos são ferramenta importante nesse contexto. A Fig 1. ilustra uma árvore decisória estabelecida pelo GHS na avaliação do potencial irritante e corrosivo dérmico de uma substância. Claramente todas as informações disponíveis devem ser consideradas a fim de determinar a necessidade ou não de condução do ensaio in vivo.

Além do bem-estar animal, os métodos alternativos têm permitido maior conhecimento das propriedades da substância e dos perigos oferecidos após exposição aguda. Maior reprodutibilidade e maior confiabilidade dos resultados são também anseios das novas metodologias de ensaio.

## Referências

- CAZARIN, K. C. C.; CORRÊA, C. L.; ZAMBRONE, F. A. D. *Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. Rev. Bras. Cienc. Farm., v. 40, n. 3, p. 289-299, 2004.*
- ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. *OECD Guideline for the testing of chemicals: Section 4. Paris, France.*
- ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. *Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation.. OECD No 19, 2000.*
- RUSSEL, W. M. S. e BURCH, R. L. *The Principles of humane Experimental Technique. 1992.*
- UNITED NATIONS. *Globally Harmonized System Of Classification and Labelling of Chemicals (Ghs). 1st revised edition. New York, United States, 2005. ISBN 92-1-116927-5.*
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Health Effects Test Guidelines OPPTS. Section 870. Acute Toxicity Testing. Washington, DC, U.S.A.* ●

# Biotecnologia em alta ILSI Brasil

## Workshop

**A**gende-se! Acontecerá nos dias 27 e 28 de novembro, no Hotel Intercontinental, em São Paulo, o Workshop “Bases Científicas para Processos Regulatórios”. O evento será promovido pelo Comitê de Biotecnologia do ILSI Brasil em parceria com o HESI (ILSI Health and Environmental Science Institute). O HESI é um órgão do ILSI, sediado em Washington DC, que tem como missão o estímulo de pesquisas científicas e programas educacionais, contribuindo para a identificação e solução de questões das áreas de saúde e meio-ambiente, de interesse público, da comunidade científica, das agências governamentais e da indústria. Confira a programação no site [www.ilsil.org.br/biotecnologia](http://www.ilsil.org.br/biotecnologia).

## Informações de peso

**E**steve conosco no “Congresso ANBIO 2007”, que aconteceu em Ouro Preto (MG), o Dr. Ray Shillito - coordenador do Comitê de Biotecnologia do ILSI Internacional. Dr. Shillito fez uma rica explanação sobre Métodos de detecção de OGMs.

## Presença marcante

**O** Comitê de Biotecnologia do ILSI Brasil se prepara para receber um profissional de destaque do segmento. Trata-se do Dr. Will Ridley, do IFBiC (ILSI International Food Biotechnology Committee), Estados Unidos. Ele estará presente em dois eventos importantes que acontecerão em São Paulo. A primeira participação ocorrerá no dia 23 de outubro durante o “7th Food Data Conference” e a segunda acontecerá dia 25 de outubro durante o Congresso da SBAN (Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição), dentro da mesa sobre Composição de Alimentos e Biodiversidade. O tema da palestra será: “Entendendo a variação natural da composição de plantas utilizando a base de dados do ILSI Crop Composition Database”.

Para dar suporte às palestras que serão ministradas pelo Dr. Ridley, o ILSI Brasil está preparando a tradução do artigo “Development of the International Life Sciences Institute Crop Composition Database”. O artigo, de co-autoria do Dr. Ridley será disponibilizado aos participantes do Congresso SBAN, aos participantes do Food Data Conference, ao Conselho Científico e aos associados do ILSI Brasil. ●

## Publicação

# Nova publicação trata dos benefícios da Soja

**D**entre as séries de publicações elaboradas pelo ILSI Brasil é com orgulho que lançamos o segundo volume da série “Alimentos com Propriedades Funcionais e/ou Saúde”, elaborado pela Força-tarefa Funcionais que tem como tema principal a soja. A publicação apresenta os benefícios da soja para a saúde humana, destacando seu valor nutritivo como alimento, além de mostrar as normas da legislação brasileira para a rotulagem de alimentos funcionais. Estudos clínicos mais extensivos são necessários para que a soja seja incluída como referência de saúde na rotulagem de embalagens alimentares; entretanto, ela é nutritiva, não tem colesterol e apresenta proteína de boa qualidade, o que justifica sua inclusão em uma dieta diversificada. Essa é a mensagem que este livro deixa a seus leitores. Garanta já seu exemplar entrando em contato com o ILSI Brasil através do e-mail: [ilsibr@ilsil.org.br](mailto:ilsibr@ilsil.org.br). ●

