



Métodos Alternativos ao Uso de Animais e sua Aceitação Regulatória no âmbito de Dispositivos Médicos

Webinar com a Gerência de Tecnologia de Materiais de Uso em Saúde

Realização:

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Coordenação de Gestão da Transparência e Acesso à Informação - CGTAI
Gerência-Geral de Conhecimento, Inovação e Pesquisa - GGCIP

Gerência de Tecnologia de Materiais de Uso em Saúde – GEMAT
Gerência-Geral de Tecnologia de Produtos para Saúde – GGTPS



AGENDA

- » Considerações sobre Métodos Alternativos ao Uso de Animais;
- » Contextualização Normativa e Regulatória;
- » Aplicabilidade das Metodologias Alternativas atualmente reconhecidas pelo Concea à Avaliação de Segurança Biológica (Biocompatibilidade) de Dispositivos Médicos.



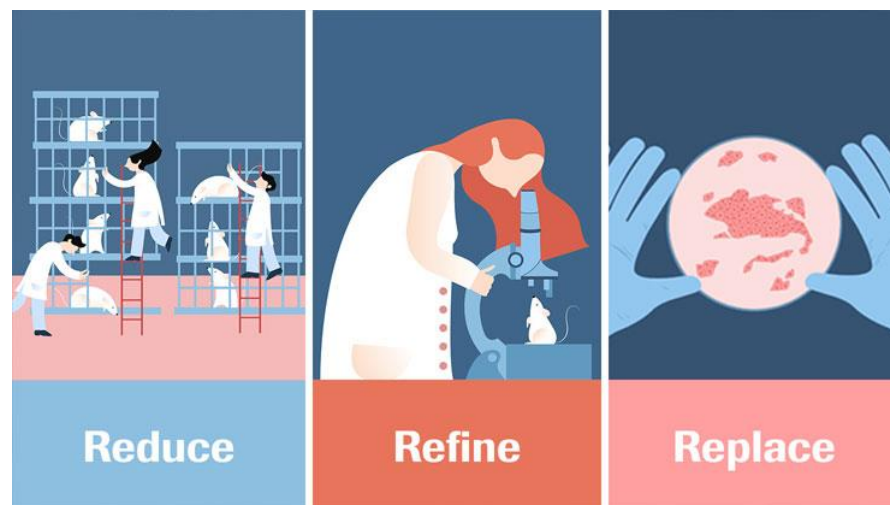


MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Definição

São métodos de teste que:

- > substituem ou evitam o uso de animais em experimentos (*replacement*);
- > reduzem o número de animais utilizados ao mínimo (*reduction*) e/ou;
- > minimizam o sofrimento e garantem o bem-estar animal (*refinement*).



ANVISA

Agência Nacional de Vigilância Sanitária



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Outras Considerações

» Também conhecidos como:

- > “**Métodos não-animal**”;
- > “**Tecnologias avançadas**” (*advanced technologies*);
- > “**Novas metodologias de abordagem**” (*new approach methodologies – NAMs*).

» Incluem metodologias:

- > *In vitro* (culturas de células);
- > *In chemico* (identificação de compostos reativos);
- > *In silico* (baseadas em modelos e ferramentas computacionais);
- > além de novas ferramentas de teste, como métodos de triagem de alto rendimento, *read-across* “leitura-cruzada”.

***** Métodos *in vivo* com enfoque em redução ou refinamento também são considerados alternativos.**



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Contexto Regulatório

» Para fins regulatórios, o uso de animais destina-se especialmente à avaliação toxicológica.

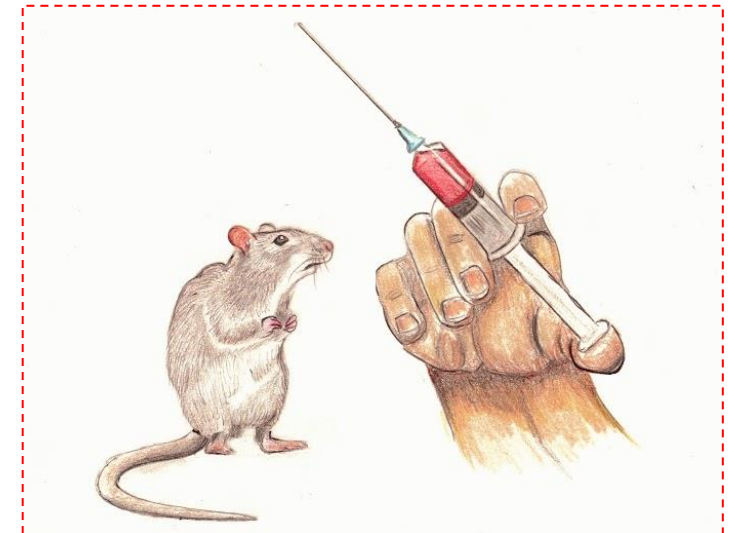
» Trata-se de abordagem convencional e reconhecida, apesar de suas limitações:

- confiabilidade e poder de predição questionáveis;
- alto custo;
- demora.

» Nesse contexto de uso, o número de animais empregados é desconhecido e difícil de estimar. (TAYLOR & ALVAREZ, 2020)



No âmbito de Dispositivos Médicos sua aplicabilidade é observada nas avaliações **de segurança** e **eficácia/desempenho**.



ANVISA

Agência Nacional de Vigilância Sanitária



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Contexto Regulatório

» Todo esse cenário, associado às preocupações morais e éticas relacionadas ao uso e sofrimento animal, tem mobilizado o avanço de metodologias alternativas.

» A Organização para a Coordenação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) → desenvolvimento, harmonização e difusão de Diretrizes para Testes (*Test Guidelines*) – convencionais e alternativas.

↳ Algumas delas incorporadas (com modificações à série de normas ISO 10993).





MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Anvisa

Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 35/2015 – dispõe sobre aceitação dos métodos alternativos de experimentação animal reconhecidos pelo CONCEA.

- > Posicionamento quanto à aceitabilidade de métodos alternativos ao uso de animais reconhecidos pelo CONCEA, nos termos do disposto pela Resolução Normativa nº 54/2022*.
- > Prevê a possibilidade de não aceitação, mediante justificativa técnica fundamentada, frente a eventual inadequação e/ou inaplicabilidade dos referidos métodos.

CONCEA
Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

Resoluções Normativas nº 18/2014 (17), 31/2016 (7) e
45/2019 (1)



Vigência a partir de
2019, 2021 e 2024 –
respectivamente.

25 métodos alternativos reconhecidos.

* Revogou a Resolução Normativa nº 17/2014.



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Anvisa – Dispositivos Médicos

Produto Médico ou Dispositivo Médico:

“...material, artigo ou sistema de uso ou aplicação médica, odontológica ou laboratorial, destinado à prevenção, diagnóstico, tratamento, reabilitação ou anticoncepção e que não utiliza meio farmacológico, imunológico ou metabólico para realizar sua principal função em seres humanos...”

(Resolução RDC nº 185/2001 – Anexo I, item 13)



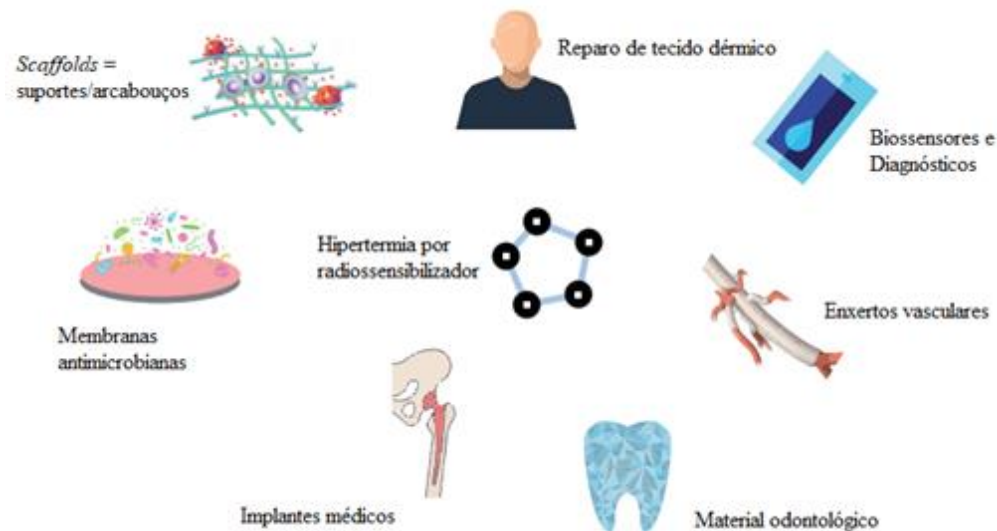


MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Anvisa – Dispositivos Médicos

» Cenário:

Mercado dinâmico e crescente + maior demanda por testes ... iniciativas de incentivo



Metodologias alternativas que privilegiem abordagens integradas de teste (preferencialmente → modelos *in vitro*).

HALAMODA-KENZAQUI, B. et al., 2019



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Anvisa – Dispositivos Médicos

» Resolução RDC n° 35/2015

- > Resolução RDC n° 546/2021;
- > Série de normas ISO 10993;
- > Literatura.

Trabalho de revisão e avaliação das 25 metodologias alternativas reconhecidas pelo Conceia, no contexto regulatório de dispositivos médicos.



ANVISA

Agência Nacional de Vigilância Sanitária



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Anvisa – Dispositivos Médicos

Metodologias Alternativas → Avaliação de Segurança Biológica.

Prevista pela Resolução RDC nº 546/2021

↳ parte do processo de desenvolvimento e avaliação de dispositivos médicos → uso seguro (art. 6º);

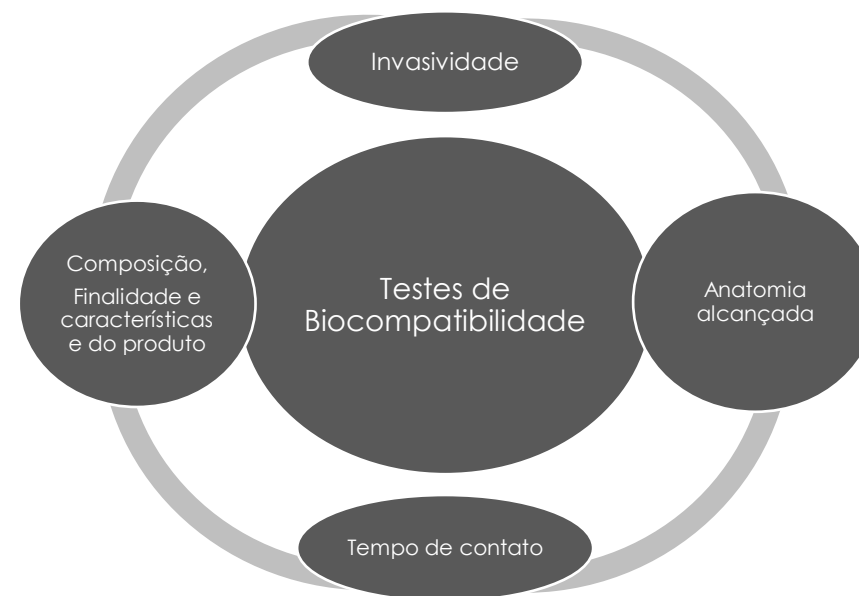
↳ seleção de materiais (toxicidade);

↳ compatibilidade entre os materiais utilizados e os tecidos biológicos (art. 13, I e II);



redução de riscos (potencial interação com outros materiais/substâncias; liberação/desprendimento de produtos de degradação/lixiviáveis; contaminação) – art. 15, 16 e 17.

Normatizada pela série de normas ISO 10993



ANVISA

Agência Nacional de Vigilância Sanitária



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Anvisa – Dispositivos Médicos

Série de normas ISO 10993

- ↳ essencialmente baseadas em testes conduzidos em modelo animal (*in vivo*);
- ↳ testes *in vitro* disponíveis e apropriadamente validados, ainda são limitados (citotoxicidade, genotoxicidade (AMES) e hemocompatibilidade, por exemplo);
- ↳ abarca metodologias convencionais e alternativas (OCDE).

*** Testes de biocompatibilidade podem não ser necessários (materiais com longo histórico de uso e segurança bem estabelecida) → Avaliação de **dados disponíveis em literatura** sob uma perspectiva de **gerenciamento de risco**.

Limitações:

- ↳ misturas de materiais → extração (solventes polares e apolares) para testes de segurança (“—”);
- ↳ metodologias validadas modificadas (substâncias puras*).



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Aplicáveis à Avaliação de Segurança Biológica de Dispositivos Médicos

DESFECHO	OECD TG	APLICABILIDADE	LIMITAÇÕES
Avaliação do Potencial de Irritação e Corrosão da Pele (RN nº 18/2014)	TG 439 - Teste de Irritação Cutânea <i>in vitro</i> (modelo de epiderme humana reconstruída RhE). * EpiDerm e SkinEthic (modelos de epiderme atualmente validados).	Sim (Teste substitutivo ao teste <i>in vivo</i> realizado em coelhos para avaliação de irritação dérmica)	Metodologia adaptada (> exposição) e validada para irritação tecidual e dérmica (materiais poliméricos – PVC e silicone) .
Avaliação do Potencial de Sensibilização Cutânea (RN nº 18/2014)	TG 429 – Sensibilização Cutânea: Ensaio do Linfonodo Local	Sim	Não recomendados para substâncias que não penetrem a pele ou que esse atributo não seja conhecido; Não recomendado para materiais inovadores.
	TG 442A – Versões não radioativas do Ensaio do Linfonodo Local	Sim	
	TG 442B – Versões não radioativas do Ensaio do Linfonodo Local	Sim	



ANVISA

Agência Nacional de Vigilância Sanitária



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Aplicáveis à Avaliação de Segurança Biológica de Dispositivos Médicos

DESFECHO	OECD TG	APLICABILIDADE	LIMITAÇÕES
Avaliação de Genotoxicidade (RN nº 18/2014)	TG 487 – Teste de Micronúcleo em Células de Mamífero <i>in vitro</i>	Sim	Como parte de uma abordagem do tipo bateria de testes – já prevista pelas normas ISO 10993-3 e 33.
Avaliação da Contaminação Pirogênica em Produtos Injetáveis (RN nº 31/2016 e RN nº 45/2019)	Teste de Endotoxina (LAL) Farmacopeia Brasileira	Sim (ISO 10993-11)	Complementar ao teste <i>in vivo</i> . Limitado à detecção de endotoxinas.
	Teste de Ativação de Monócitos (MAT) Reconhecido pela Farmacopeia Europeia e aceito pelo FDA.	Sim	Alternativo ao LAL – capacidade adicional de detecção (endotoxina, outros pirógenos microbianos).



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Não-aplicáveis à Avaliação de Segurança Biológica de Dispositivos Médicos

DESFECHO	OECD TG	APLICABILIDADE	LIMITAÇÕES
Avaliação do Potencial de Irritação e Corrosão da Pele (RN nº 18/2014)	TG 430 Corrosão dérmica <i>in vitro</i>: Teste de Resistência Elétrica Transcutânea.	Não	Não validado para mistura (informações limitadas).
	TG 431 - Corrosão dérmica <i>in vitro</i>: Teste da Epiderme Humana Reconstituída.	Não	Não validado para mistura (informações limitadas).
	TG 435 - Teste de Barreira de Membrana <i>in vitro</i>.	Não	Destinado à identificação de substâncias químicas corrosivas (GHS), não abarca misturas.
Avaliação do Potencial de Irritação e Corrosão Ocular (RN nº 18/2014)	TG 460 Teste de Permeação de Fluoresceína	Não (↑ taxas de falso negativo) (Lotz et al., 2016)	Apenas subst./misturas solúveis em água – corrosivos e irritantes severos. Não aplicável a uma série de substâncias.



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Não-aplicáveis à Avaliação de Segurança Biológica de Dispositivos Médicos

DESFECHO	OECD TG	APLICABILIDADE	LIMITAÇÕES
Avaliação do Potencial de Irritação e Corrosão Ocular (RN nº 31/2016)	TG 491 – Teste <i>in vitro</i> de curta duração para danos oculares	Não	Tecnicamente aplicável a substâncias puras, dados limitados para misturas multiconstituintes.
Avaliação do Potencial de Sensibilização Cutânea (RN nº 31/2016)	TG 442C – Sensibilização Cutânea <i>in chemico</i>	Não	Não validados para avaliação de dispositivos médicos (baixas concentrações de substâncias químicas presentes nos extratos de dispositivos médicos e limitações quanto a determinados solventes).
	TG 442D – Sensibilização Cutânea <i>in vitro</i>	Não	
Avaliação de Toxicidade Reprodutiva (RN nº 31/2016)	TG 422 – Estudo de Toxicidade Repetida combinado com Teste de Toxicidade Reprodutiva	Não	Informações limitadas sobre os efeitos da substância avaliada no desempenho reprodutivo.



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Possíveis na Avaliação de Segurança Biológica de Dispositivos Médicos

DESFECHO	OECD TG	APLICABILIDADE	LIMITAÇÕES
Avaliação do Potencial de Irritação e Corrosão Ocular (RN nº 18/2014)	TG 437 Permeabilidade e Opacidade de Córnea Bovina (BCOP)	Possível (EIT*)	Etapa inicial dentro de uma ETI – irritantes severos, não identifica irritantes leves.
	TG 438 Teste de Olho Isolado de Galinha (Isolated Chicken Eye – ICE)	Possível (EIT*)	Etapa inicial dentro de uma ETI - irritantes severos e não irritantes, não identifica irritantes leves.
Avaliação do Potencial de Irritação e Corrosão Ocular (RN nº 31/2016)	TG 492 – Epitélio Corneano Humano Reconstituído	Possível (EIT*)	Etapa inicial dentro de uma ETI – irritantes severos, não identifica irritantes leves.

*ETI = Estratégia Integrada de Testes (combinação de ensaios proposta com base em abordagens pragmáticas e baseadas em ciência para caracterização de perigos químicos – IATA) .



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Possíveis na Avaliação de Segurança Biológica de Dispositivos Médicos

DESFECHO	OECD TG	APLICABILIDADE	LIMITAÇÕES
Avaliação da Absorção Cutânea (RN nº 18/2014)	TG 428 – Absorção Cutânea Método <i>in vitro</i>	Possível (dispositivos médicos de aplicação tópica)	Aplicável na fase inicial de desenvolvimento do produto – determinação de sua absorção ou como método de triagem em comparações de diferentes formulações. Substâncias puras ou presentes em formulações tópicas.
Avaliação do Potencial de Fototoxicidade (RN nº 18/2014)	TG 432 Teste de Fototoxicidade <i>in vitro</i> 3T3 NRU	Possível (dispositivos médicos constituídos de substância pura ou para substâncias isoladas)	Metodologia não projetada para avaliação de efeitos de misturas ou extratos, mas citotoxicidade prevista pela ISO 10993-5.

*ETI = Estratégia Integrada de Testes (combinação de ensaios proposta com base em abordagens pragmáticas e baseadas em ciência para caracterização de perigos químicos – IATA) .



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Possíveis na Avaliação de Segurança Biológica de Dispositivos Médicos

DESFECHO	OECD TG	APLICABILIDADE	LIMITAÇÕES
Avaliação de Toxicidade Aguda (RN nº 18/2014)	TG 420 Toxicidade Aguda Oral - Procedimento de Doses Fixas.	Possível (dispositivos médicos constituídos por substâncias puras)	Aplicáveis a dispositivos médicos constituídos por substâncias puras e que entrem em contato com a mucosa oral (direta ou indiretamente) ou que possuam aplicação enteral.
	TG 423 - Toxicidade Aguda Oral - Classe Tóxica Aguda.		
	TG 425 - Toxicidade Aguda Oral - Procedimento "Up and Down"		
	TG 129 - Estimativa de Dose Inicial para testes de Toxicidade Aguda Oral		



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Possíveis na Avaliação de Segurança Biológica de Dispositivos Médicos

DESFECHO	OECD TG	APLICABILIDADE	LIMITAÇÕES
Avaliação de Toxicidade Reprodutiva (RN nº 31/2016)	TG 421 – Teste de Triagem para Toxicidade Reprodutiva	Possível (teste de triagem)	Como etapa inicial, para obtenção de informações preliminares a respeito de possíveis efeitos na reprodução e/ou desenvolvimento – conforme disposto pelo próprio método e pela norma ISO 10993-3.



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Em resumo...

» Pode-se dizer que, dos 25 métodos atualmente reconhecidos pelo Concea e aceitos pela Anvisa ...

> sete (7) deles são aplicáveis à avaliação de segurança de dispositivos médicos, sendo outros dez (10) passíveis de aplicação dentro de estratégias integradas de testes, para obtenção de informações iniciais ou como métodos de triagem;

> observância ao escopo da diretriz de teste, suas limitações e especificidades são fundamentais a sua incorporação no processo de avaliação de segurança biológica sob uma perspectiva de risco;

> por isso, a avaliação quanto à aplicabilidade ou não de métodos alternativos à avaliação de riscos biológicos deve ser feita **caso a caso**;

> a depender do conhecimento existente sobre a segurança toxicológica dos materiais empregados no dispositivo médico objeto de interesse, testes podem não ser necessários → Avaliação de dados disponíveis em literatura em um contexto de gerenciamento de risco.



MÉTODOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

Conclusão

- Métodos alternativos são uma realidade em ascensão → estratégias de refinamento e redução;
- Métodos validados são imperativos aos processos de reconhecimento e aceitação regulatória. Especial atenção deve ser dada **ao escopo da validação, suas limitações e possibilidade de emprego do método em estratégias integradas de teste** → aplicabilidade ou não ao contexto de avaliação requerida.
- Competência e proficiência laboratorial constituem-se aspectos relevantes a serem considerados e observados na condução de testes baseados em metodologias alternativas.
- Avanços relacionados à validação de métodos alternativos para amostras constituídas por misturas/extratos são fundamentais à avaliação de sua aplicabilidade ao cenário de dispositivos médicos.





REFERÊNCIAS CONSULTADAS

BRASIL, A. N. DE V. S. **Resolução RDC nº 185, de 22 de outubro de 2001.** Aprovar o Regulamento Técnico que consta no anexo desta Resolução, que trata do registro, alteração, revalidação e cancelamento do registro de produtos médicos na Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BRASIL, A. N. DE V. S. **Resolução RDC nº 35, de 07 de agosto de 2015.** Dispõe sobre a aceitação dos métodos alternativos de experimentação animal reconhecidos pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal – Concea.

BRASIL, A. N. DE V. S. **Resolução RDC nº 546, de 30 de agosto de 2021.** Dispõe sobre os Requisitos Essenciais de Segurança e Eficácia aplicáveis aos produtos para saúde.

ISO. International Organization for Standardization. ISO 10993-1: **Biological evaluation of medical devices – Part 1: Evaluation and testing within a risk management process. Fifth Edition.**

LOTZ, et al. **Alternative Methods for the Replacement of Eye Irritation Testing.** Review. ALTEX. 2016.

MORETTO, L.D.; STEPHANO, M.A. **Métodos Alternativos o Uso de Animais em Pesquisa Reconhecidos no Brasil.** 1ª ed. Limay Editora. São Paulo, 2019.

TAYLOR, K.; ALVAREZ, L.R. **Regulatory drivers in the last 20 years towards the use of in silico techniques as replacements to animal testing for cosmetic-related substances.** Computational Toxicology, 2020.



Obrigada!

gemat@anvisa.gov.br

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa
SIA Trecho 5 - Área especial 57 - Lote 200
CEP: 71205-050
Brasília - DF

www.anvisa.gov.br
www.twitter.com/anvisa_oficial
Anvisa Atende: 0800-642-9782
ouvidoria@anvisa.gov.br



IMPORTANTE

O conteúdo contido nesta apresentação, bem como o posicionamento regulatório nela manifestado resultam do conhecimento científico vigente, não sendo, portanto, um fim em si mesmo.

Mudanças de entendimento poderão ocorrer ao longo do processo de construção e consolidação do conhecimento, o que será oportunamente comunicado e publicizado por esta Gerência.

