

AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA DE DISPOSITIVOS MÉDICOS: APLICAÇÃO DOS MÉTODOS ALTERNATIVOS NA SUBSTITUIÇÃO DOS TESTES DE REATIVIDADE INTRACUTÂNEA E IRRITAÇÃO CUTÂNEA

ARAUJO, Iasmin Ferreira de; SHIMADA, Ana Lúcia Borges
araujo.if@hotmail.com
Centro de Pós-Graduação Cultura e Extensão Oswaldo Cruz

Resumo: Dispositivo médico (DM) é todo e qualquer instrumento utilizado no diagnóstico, prevenção, monitorização e tratamento médico com o intuito de melhorar a qualidade de vida humana. A interação corpo e material deve ser inerte, para que não haja reações adversas. Neste sentido, a biocompatibilidade é uma característica vital dos dispositivos, sendo essencial para garantir a eficiência e eficácia dos materiais, e determinada por testes de irritação realizados até então, *in vivo*. Métodos alternativos são procedimentos que visam substituir a utilização de animais em pesquisas e uma das alternativas é a utilização da pele *in vitro*. Neste trabalho, pretende-se apresentar a aplicação dos métodos alternativos como forma de avaliação da biocompatibilidade dos dispositivos médicos para a substituição dos testes de irritação *in vivo*, com a finalidade de demonstrar a vantagem tanto em minimizar os riscos de irritação como diminuir o uso de animais.

Palavras-chave: Dispositivos Médicos. Métodos Alternativos. Teste *in vitro*. Anvisa.

Abstract: Medical device is any and all instruments used in medical diagnosis, prevention, monitoring and treatment to improve human quality of life. Body and material interaction should be inert, and cause then no adverse effects. In this context, biocompatibility is a vital feature for ensuring material efficacy and efficiency and measured today by irritation tests performed *in vivo*. Alternative methods are procedures that aim to replace the use of animals in research and as example the use of skin *in vitro*. In this paper, we aimed to present alternative method applications as a means of evaluating biocompatibility of medical devices and therefore replace irritation tests *in vivo*, reducing the risks of irritation and the use of animals.

Keywords: Medical devices. Alternative methods. Test *in vitro*. Anvisa.

1 INTRODUÇÃO

Dispositivo médico (DM) é classificado como qualquer instrumento, aparelho, implemento, máquina, implante, reagente para uso *in vitro*, software, material ou outro artigo similar ou relacionado, podendo ser utilizado sozinho ou em combinação, de acordo com sua especificação, e que não atinge sua finalidade por meios biológicos (WHO, 2019). Desta forma é

utilizado no diagnóstico, prevenção, monitorização e tratamento médico com o intuito de melhorar a qualidade de vida humana (RAPOSO, 2013; COLEMAN, 2012).

A Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão responsável por fiscalizar e autorizar a comercialização de produtos destinados a saúde no país. De acordo com a Anvisa, os DM são classificados segundo suas características de risco em classes I (não-invasivo), II (invasivo cirurgicamente - uso transitório ou curto), III (implantes - longo prazo) ou IV. Àqueles pertencentes a classe de risco IV incluem os DM invasivos de uso transitório ou a longo prazo, implantáveis ou não, mas que entram em contato com o coração, sistema nervoso central ou circulatório central. Nesta categoria, está incluso também a utilização de tecidos de origem ou derivados de animal (ANVISA, 2001). Os DM podem ainda ser classificados de acordo com o tempo de permanência no corpo, cujos prazos vão desde o uso transitório (60 minutos de uso contínuo), curto (30 dias de uso contínuo) ou longo (superior a 30 dias de uso contínuo).

De acordo com ANUSAVICE *et al.* (2013, p. 10), podemos citar alguns exemplos de cada classe dos DM:

Dispositivos de classe I estão sujeitos a "Controles Gerais" [...] exemplos de equipamentos de classe I incluem ataduras elásticas, luvas para exame clínico e instrumentos cirúrgicos manuais. Exemplos de dispositivos de classe II incluem cadeiras de roda elétricas, bombas de infusão, campos cirúrgicos e amálgamas dentários. Equipamentos de classe II estão sujeitos a controles especiais. [...] Os equipamentos mais controlados estão na classe III. Equipamentos caem na classe III se eles são utilizados para dar apoio ou sustentação à vida humana, são de importância substancial para prevenir a perda da vida humana ou se eles apresentam um risco potencial considerável de desconforto ou danos. [...] Exemplos de equipamentos de classe III, que requerem aprovação pré-comercialização, incluem válvulas cardíacas, implantes mamários de silicone e estimuladores de cerebelo implantáveis [...].

Para que sejam comercializados no Brasil, os fabricantes devem registrar os produtos junto à Anvisa e após aprovados, terão um prazo máximo de validade de 5 anos, podendo ser renovado pelo mesmo período. Todavia, toda e qualquer modificação que o DM venha a sofrer, a Agência deverá ser notificada. Ainda, é importante considerar que o fabricante deve demonstrar que o dispositivo está em conformidade com os requisitos essenciais relevantes para a comercialização, ou seja, deve garantir a qualidade e a segurança do DM (ANVISA, 2001).

Para tanto, ensaios de biocompatibilidade têm fundamental importância para determinar os riscos potenciais que o DM pode causar quando em contato com o organismo (ALVES, 2013; COLEMAN, 2012; REEVE & BALDRICK, 2017). Essa avaliação tem como base os padrões da

organização internacional de normalização, particularmente a ISO 10993 (*Biological evaluation of medical devices*), que orienta quanto à execução dos ensaios simulando as condições de uso e tempo do DM, conforme a categoria de duração da exposição definidas como limitadas (<24h), prolongadas (24h-30 dias) e permanente (>30 dias) (BERNARD *et al.*, 2018; JONG, 2013), sendo estes em sua maioria realizados em animais de laboratório.

A realização de testes de avaliação toxicológica tem particular relevância quando se trata de demonstrar a eficácia e garantir o uso clínico dos dispositivos médicos. Debate-se, contudo, o emprego de animais como forma de avaliação para averiguar efeitos adversos dos produtos (COLEMAN, 2012; REEVE & BALDRICK, 2017). Partindo da ideia que no país já existem métodos alternativos aprovados que substituem o uso de animais nos testes toxicológicos, ressalta-se que as empresas a partir deste ano devem utilizar métodos alternativos como primeira opção para avaliar a eficiência e eficácia de seus produtos (ANVISA, 2015). Assim, neste trabalho, pretende-se discutir a aplicação de métodos alternativos ao uso de animais como forma de avaliação da biocompatibilidade dos dispositivos médicos, principalmente nos ensaios de irritação dérmica.

1.1 Toxicologia

A toxicologia é a ciência responsável por estudar os efeitos nocivos decorrentes das interações de substâncias químicas com o organismo. Esses efeitos podem ser avaliados por meio de análises que evidenciam as respostas biológicas frente aos agentes químicos quando em contato com o ser vivo. Assim, não se trata somente de evitar o contato com tais agentes químicos, mas sim avaliar como tais efeitos são originados e como podem ser atenuados (GALLO, 2012).

Segundo Bjeldanes (2014), o estudo dos agentes tóxicos é de extrema importância e todo esse processo ocorre para evitar uma intoxicação acidental e para identificar as concentrações necessárias para utilização segura e consciente. Neste contexto, fica claro que se deve ter precaução quanto ao uso, já que a mesma substância pode ser empregada com inúmeras finalidades, desde o uso na área da saúde até a alimentícia. Em resumo, a toxicologia é o alicerce fundamental entre o estudo das propriedades tóxicas das substâncias e garante a segurança da exposição a, por exemplo, DM, possibilitando por meio de testes prevenir e/ou minimizar os riscos decorrentes do seu uso.

Segundo Teitelbaum (2017), o risco decorrente da exposição a substâncias químicas depende da dose recebida, podendo-se, de posse do conhecimento das doses tóxicas, minimizar ou até mesmo atenuar os efeitos indesejáveis deles no organismo. Importante também é o período pelo qual o corpo ficou em contato com a substância. Assim, a avaliação de risco é essencial para o monitoramento de segurança dos produtos por parte das agências reguladoras.

De acordo com Duffus *et al.* (2009, p. 47) há quatro etapas na avaliação de risco:

1. Identificação de perigo: Identificar agentes responsáveis por possíveis efeitos nocivos, coletar informações sobre suas propriedades físico-químicas e nocivas, sobre o (s) grupo (s) de pessoas ou seus organismos vivos expostos e sobre as circunstâncias de exposição.
2. Caracterização de risco: Identifique os efeitos potenciais de possíveis exposições e quantifique as relações dose-efeito e dose-resposta.
3. Avaliação da exposição: Quantifique a exposição, por medição ou monitoramento biológico, se já ocorrer, ou por modelagem preditiva, se ainda não ocorrido.
4. Estimativa de risco: Quantifique o risco no grupo exposto, deixando claro quaisquer suposições envolvidas. Idealmente, isso deve fornecer uma medida estatisticamente baseada de probabilidade de dano ao grupo definido e sob circunstâncias definidas. Isso não é possível e calcula-se um quociente de risco relacionado à probabilidade de dano, mas apenas como uma aproximação.

Para a adequada condução desta avaliação, recomenda-se o uso da avaliação do risco integrada para testar e avaliar (IATA) a corrosão e irritação da pele (*Guidance on an integrated approach to testing and assessment for skin corrosion and irritation (July 2014): Series on testing and assessment, No. 203*), publicado pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD), uma organização internacional que copila uma série de métodos a serem utilizados na execução e elaboração de testes, aceito internacionalmente por laboratórios, governos e indústrias, para avaliar a segurança dos produtos a serem registrados em seus órgãos competentes (OECD, 2019).

A proposta da IATA é auxiliar na condução e escolha dos testes de irritação e consequente classificação da corrosão e irritação da pele causada pelas substâncias químicas de forma racional, incluindo para tanto a avaliação de critérios de decisão importantes para definição de uma estratégia de avaliação coerente. A IATA é composta por oito módulos, classificados em três partes. Na primeira parte, devemos levar em consideração todas as informações existentes e disponíveis na literatura acerca dos produtos, bem como suas propriedades físico-químicas; caso esta etapa seja insuficiente para classificar o material, a segunda parte do documento deverá ser realizada, onde são recomendados testes *in vitro* validados para complementar a investigação anterior. Logo, a terceira parte, refere-se ao uso de testes *in vivo*, aplicado somente em último caso, como forma complementar as informações pretendidas (OECD, 2014).

2 BIOCOMPATIBILIDADE

Podemos conceituar biocompatibilidade como uma característica vital para o resguardo dos dispositivos para que os mesmos não acarretem danos durante ou após a sua utilização. Desta forma, assume-se que a compatibilidade biológica é demonstrada com a ausência de quaisquer malefícios dos DM quando empregue no ser vivo. Certamente se trata de assegurar que também a longo prazo o dispositivo não cause nenhuma irritação (MAIA *et al.*, 2010). A biocompatibilidade, de acordo com ANUSAVICE *et al.* (2013) se dá através da incorporação do material bem como da sua permanência no corpo. Neste contexto, fica claro que a interação corpo e material deve ser inerte, para que não haja reações adversas mediadas pelas propriedades químicas do material em meio aos fluidos corpóreos.

O uso específico de um material no corpo tem relação direta com a resposta biológica que ele produz. Existem alguns requisitos importantes para qualquer teste de biocompatibilidade. Três dos mais significativos são: (1) o teste deve ser realizado sob condições que simulem o uso real do material no corpo; (2) as condições de teste devem refletir o efeito do tempo de permanência do material no corpo sobre a resposta biológica, e (3) as tensões induzidas no material em operação devem ser consideradas na interpretação da resposta biológica.. Em geral, os testes mais exigentes são aqueles desenvolvidos para avaliar materiais dos quais se espera que permaneçam em uso por tempo muito prolongado (p. 138).

Atribui-se, com certa razão, a necessidade de realizar o teste de risco biológico logo nos estágios iniciais do desenvolvimento dos dispositivos médicos para minimizar as falhas de biocompatibilidade do material em sua versão final, já que objetiva avaliar a solubilidade, degradação e estabilidade tanto térmica quanto mecânica, importantes, por exemplo, durante o processo de extração por lixiviação do componente utilizado na fabricação. Nesse sentido, os testes de biocompatibilidade devem seguir as Boas Práticas de Laboratório (BPL) exigidas pela ISO. As diretrizes das BPL fornecem os requisitos para o planejamento, execução e documentação de estudos de laboratório, a fim de garantir a reprodutibilidade dos resultados (BERNARD *et al.*, 2018; JONG, 2013).

Um dos testes de biocompatibilidade mais realizados para DM é o da irritação. Os testes de irritação são testes clássicos que permitem uma análise da resposta local após o contato direto do DM ou de seu extrato na superfície da pele. Já o teste de reatividade intracutânea avalia a reação localizada do tecido a extratos de DM sempre na versão final do produto, sendo indicado

para os dispositivos implantados. Ambos são descritos pela norma de referência ISO 10993-10 (UPMAN *et al.*, 2003; JONG, 2012).

2 METODOLOGIA

Segundo Oliveira (2018, p. 32), “esta modalidade de pesquisa se concentra basicamente em estudos bibliográficos [...]. Trabalha com teorizações, conceitos, descrições [...]”. Neste contexto, fica claro que envolve a seleção de autores especializados através de livros, artigos científicos e sites confiáveis, com abordagem exploratória qualitativa (FURTADO & DUARTE, 2015).

3 MÉTODOS ALTERNATIVOS

Métodos alternativos são procedimentos que visam substituir a utilização de animais em pesquisas. Neste contexto, fica claro que tais procedimentos tem como alicerce o conceito dos 3R's desenvolvido por Russel e Burch em 1959, onde propuseram refinar as técnicas utilizadas nos procedimentos ao se utilizar animais (*refine*), reduzir o número de animais utilizados na pesquisa (*reduce*) quando possível ou, até mesmo, procurar substituir (*replace*) o espécime por outro modelo, seja ele software ou *in vitro*, de forma que o resultado obtido seja igual àquele que utilizasse animais (FEIJÓ, 2011).

Neste contexto, com a Lei 11.794 de 2008, conhecida no país como Lei Arouca, foi criado o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O CONCEA é uma instância multidisciplinar de caráter normativo ligada ao Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC). É importante considerar que o objetivo é formular e zelar pelo cumprimento das normas para uso humanitário de animais em pesquisas científicas e práticas acadêmicas. Sob essa ótica, ganha particular relevância o fato que qualquer instituição legalmente estabelecida em território nacional, que crie ou utilize animais para ensino ou pesquisa científica, deverá constituir uma CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais) para requerer seu credenciamento no CONCEA. Essa comissão tem como função aprovar, controlar e vigiar as atividades de criação, ensino e pesquisa científica com animais e garantir a adesão aos princípios dos 3Rs. Vale ressaltar que em 2014 o CONCEA reconheceu 17 métodos alternativos no Brasil e estabeleceu um prazo máximo de 5 anos para os laboratórios do país se adequarem

(RN Nº 18 DE 24/09/2014). Além dos 17 métodos iniciais, mais 7 métodos alternativos (RN Nº 31 DE 18/08/2016) foram reconhecidos (CONCEA, 2016).

De tal sorte, pesquisas que buscam a utilização de procedimentos alternativos e que, portanto, buscam diminuir o uso de animais nos estudos, permanecem em constante ascensão. Não se trata somente de substituir os animais em pesquisas, pois a maneira de conduzir os ensaios também é de extrema importância. Assim, deve-se ter em mente que para ter resultados eficazes, o bem-estar dos animais deve ser observado, como, por exemplo, avaliar o comportamento social e reprodutivo dos animais, incluir enriquecimento ambiental, garantir o acesso a alimento e água em quantidade e qualidade adequados, a fim de minimizar o estresse e mimetizar condições mais próximas da ideal em laboratórios e biotérios. Assim, reveste-se de particular importância lembrar que as técnicas desde o manuseio do espécime até a experimentação podem ser refinadas (CERQUEIRA, 2008; FEIJÓ *et al.*, 2011).

É importante destacar que não há dados oficiais sobre a demanda nacional por testes toxicológicos para fins de registro de produto, mas é preocupante a constatação de que, nas instalações BPL existentes no Brasil, há um claro predomínio de testes *in vivo* sobre os *in vitro* validados, com potencial impacto negativo na redução do número de animais utilizados (PRESGRAVE *et al.*, 2018, p. 370).

É importante ressaltar que é preciso procurar utilizar métodos alternativos que gerem resultados fidedignos, comparados aos testes realizados em animais, particularmente métodos *in vitro* (CAZARIN *et al.*, 2004). Adicionalmente, foi demonstrado que testes de biocompatibilidade utilizados para avaliar os efeitos adversos das substâncias químicas dos DM, quando realizados em animais de laboratório, apresentam variações do ensaio entre os próprios animais, bem como entre laboratórios. Nesse sentido, intensos estudos têm sido empregados no progresso de procedimentos alternativos aos testes de irritação e três técnicas -EpiSkin™, EpiDerm e SkinEthic™- para esta finalidade foram validados pelo Centro de Avaliação Europeu de Validação de Métodos Alternativos (ECVAM), com base no princípio da Epiderme humana reconstruída (RHE) (OECD, 2010). No Brasil, a BracVAM (Centro Brasileiro para Validação de Métodos Alternativos) é o centro responsável por coordenar (dentre outras atuações), principalmente, os estudos que contribuem para o desenvolvimento de novos métodos alternativos. Da mesma forma, o RENAMA (Rede Nacional de Métodos Alternativos) tem como objetivo instigar a inserção de métodos alternativos frente ao uso de animais nos laboratórios, por meio de treinamentos, bem como pela adoção do princípio das BPL, inspeção das atividades dos

laboratórios por meio de avaliações, bem como ao proporcionar o avanço de novos ensaios alternativos, de forma a validá-los e certificá-los (BRACVAM, 2019; BRASIL, 2015).

4 MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA OS TESTES DE IRRITAÇÃO

4.1 TESTES *IN VITRO*

Nas etapas iniciais de produção dos DM os testes *in vitro* podem ser priorizados aos testes *in vivo*, uma vez que reduzem o tempo de avaliação e de custos e ainda podem servir como testes iniciais, ou seja, os resultados são utilizados para indicar o melhor teste *in vivo* a ser realizado com base na avaliação obtida. É importante considerar que os testes *in vitro*, como um método alternativo à utilização animal, “podem ser usados para controle de qualidade, ou seja, para monitorização periódica de produtos já existentes no mercado” (BERNARD *et al.*, 2018, p.7).

A seguir, apresentamos alguns testes *in vitro* utilizados para avaliar a segurança de DM, de acordo com a OECD TG 203 (2014).

OECD TG 430: Neste protocolo, o método de teste de resistência elétrica transcutânea, a substância teste é aplicada por 24 horas na epiderme humana reconstruída (RHE). A corrosividade presente no material é revelada no teste pela sua capacidade de danificar a barreira epidérmica. Pode ser usado como um método de teste independente para a detecção ou exclusão de efeitos corrosivos dos produtos químicos em teste.

OECD TG 431: Método de teste de epiderme humana reconstruída para avaliar corrosividade *in vitro*, é válido para substâncias e misturas. Pode ser aplicado na forma sólida ou líquida, entretanto, não pode ser utilizado em testes de gases e aerossóis. Os produtos químicos corrosivos são identificados por sua capacidade de diminuir a viabilidade celular abaixo dos níveis limite definidos e a viabilidade celular é medida pelo teste de MTT (ensaio colorimétrico que verifica a quantidade de células ativas).

OECD TG 435: Método de teste de barreira de membrana *in vitro* para corrosão da pele: Pode ser realizado tanto em uma barreira sintética macromolecular quanto em um sistema de detecção química sensível ao pH. A penetração da barreira da membrana (ou ruptura) pode ser medida pela alteração na cor, por influência do pH. Aceito para identificar subcategorias 1A, 1B e não corrosivas e corrosivas para a pele, 1C. Os métodos de teste de barreira à membrana *in vitro* são aplicáveis a substâncias e misturas, englobando produtos químicos puros, diluições, formulações

ou resíduos, pode ser usado para testar sólidos (solúveis ou insolúveis em água), líquidos (aquosos ou não) e emulsões. No entanto, não é aplicável ao teste de gases e aerossóis.

OECD TG 439: Teste de irritação cutânea *in vitro*: Os produtos químicos são expostos de 15 – 60 min (varia conforme o material selecionado, EpiSkin, SkinEthic e EpiDerm). A viabilidade celular é feita pelo método de MTT. A irritação cutânea induzida por produtos químicos, demonstrada por eritema e edema, é consequência de uma cascata de eventos, começando com a penetração do estrato córneo e danos às camadas subjacentes dos queratinócitos.

4.2 MODELO DE PELE *IN VITRO*

Dentre as alternativas disponíveis para substituição do modelo *in vivo*, destacamos a utilização da epiderme humana reconstituída (RHE). A produção de pele *in vitro* remonta desde os anos da década de 80 e com o avanço das tecnologias foi possível obter hoje uma epiderme semelhante à do ser humano. Por essa razão, tem particular relevância quando se trata de usar este modelo para testes toxicológicos. Mesmo porque, debate-se o fato de muitos produtos conterem em sua produção substâncias que podem levar a uma irritação dérmica. É importante considerar que após anos de testes, a RHE passou por validações onde se mostrou eficaz em gerar resultados fidedignos e reproduzíveis frente aos produtos testados (ALÉPÉE *et al.*, 2010).

Como bem nos assegura OECD TG 439 (2013), pode-se dizer que a RHE é originada de queratinócitos humanos e possuem características biológicas humanas, ou seja, histologicamente possuem todas as camadas (basal, espinhoso, granuloso e o estrato córneo) que formam a superfície da epiderme, se tornando um modelo similar.

Conforme testes realizados pela PELLEVOISIN *et al.* (2018) foi possível com o uso da RHE avaliar os extratos de dispositivos médicos, os quais comprovaram que os testes *in vitro* são confiáveis e rentáveis financeiramente, pois não é necessário repetir o ensaio para ter resultados viáveis, além disso, puderam prever que substâncias com grau de irritação muito baixo, podem também ser detectados na RHE.

O processo de avaliação da RHE é sucedido pelo teste de viabilidade celular e o material é considerado irritante se a atividade celular for menor ou igual a 50%. Sob essa ótica, ganha particular relevância não somente o uso da RHE, bem como a utilização da pele 3D, designada assim por possuir (além das camadas acima mencionadas) uma derme, tornando-se, então, uma pele completa (HUET *et al.*, 2018).

5 CONCLUSÃO

Portanto, torna-se evidente que as alternativas aos testes *in vivo* são utilizados para avaliação os dispositivos médicos e depende tanto de métodos válidos como de guias internacionais. Vê-se, pois, que os testes de biocompatibilidade são vitais a fim de garantir eficiência e eficácia do dispositivo quando empregado no corpo dos pacientes. Logo, é indiscutível o fato que os testes de irritação *in vitro* são eficazes e imprescindíveis não somente por reduzir o número de animais utilizados na experimentação, bem como o fato de obter resultados válidos e seguros. Nesse sentido, é possível dizer que o esforço para alcançar a substituição depende tanto das empresas quando das agências regulamentadoras.

Agradecimentos

Ao término deste trabalho aqui apresentado, quero deixar meus sinceros agradecimentos a estas pessoas que se dispuseram a ajudar-me em diversas formas, meu muitíssimo obrigada pela orientação e total disposição à Dra. Ana Lúcia Borges Shimada. Ao Bruno Vieira e a Maria Das dores Pereira, no apoio e incentivo no decorrer de todo o processo “acadêmico” e por fim, agradeço a Faculdades Oswaldo Cruz por ser uma instituição que preza pelo ensino de qualidade.

REFERÊNCIAS

Alépée, N., Tornier, C., Robert, C., Amsellem, C., Roux, M.-H., Doucet, O., . . . Fraissinette, A. d. (Fevereiro de 2010). A catch-up validation study on reconstructed human epidermis (SkinEthic™ RHE) for full replacement of the Draize skin irritation test. *Toxicology in Vitro*, 24(1), 257-266. Acesso em 13 de Setembro de 2019, disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S088723330900246X>

Anusavice, K. J., Shen, C., & Rawls, H. R. (2013). *Phillips Materiais Dentários* (12 ed.). (R. Braga, Trad.) Rio de Janeiro: Elsevier.

ANVISA. (2001). *RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 185, DE 22 DE OUTUBRO DE 2001(*)*. Acesso em 11 de Setembro de 2019, disponível em Regularização de Produtos - Materiais de uso em Saúde: <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/produtos-para-a-saude/produtos/classificacao-de-materiais>

ANVISA. (31 de Julho de 2015). *Métodos alternativos ao uso de animais são aprovados*. (ASCOM, Editor) Acesso em 23 de Setembro de 2019, disponível em Agência Nacional de Vigilância Sanitária: http://portal.anvisa.gov.br/noticias?p_p_id=101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU&p_p_col_id=column-2&p_p_col_count=2&_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_groupId=219201&_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_urlTitle=aprovada-aceitacao-de-metodos-alternativos-ao-uso-de-animais&_101_INSTA

BERNARD, M., JUBELI, E., D., P. M., & YAGOUBI, N. (06 de 2018). Biocompatibility of polymer-based biomaterials and medical devices – Regulations, In Vitro Screening and Risk-Management. *Biomater. Sci.*, 6(8), 56. Acesso em 05 de 08 de 2019, disponível em <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/bm/c8bm00518d#!divRelatedContent&articles>

Bjeldanes, L. F., & Shibamoto, T. (2013). *Introdução à Toxicologia de Alimentos* (2 ed.). Rio de Janeiro: Elsevier.

BracVAM. (2019). Acesso em 15 de Outubro de 2019, disponível em Centro Brasileiro para Validação de Métodos Alternativos: https://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=1189&Itemid=215

CAZARIN, K. C., CORREA, C. L., & ZAMBRONE, F. A. (Setembro de 2004). Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, 40(3), 289-299. Acesso em 26 de Junho de 2019, disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322004000300004&lng=en&nrm=iso

CERQUEIRA, N. (2008). Métodos alternativos ainda são poucos e não substituem totalmente o uso de animais. *Cienc. Cult.*, 60(2), 47-49. Acesso em 25 de Junho de 2019, disponível em

http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252008000200021&lng=en&nrm=iso

Coleman, K., Dai, X., Deng, X., Lakehal, F., & Tang, X. (2012). Medical device biocompatibility evaluation: an industry perspective. Em J.-P. Boutrand, & J.-P. Boutrand (Ed.), *Biocompatibility and Performance of Medical Devices* (1 ed., p. 544). Cambridge: Woodhead Publishing. doi:<https://doi.org/10.1533/9780857096456.2.201>

CONCEA. (26 de Setembro de 2016). Normativas do Concea para produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica - Lei, Decreto, Portarias, Resoluções Normativas e Orientações Técnicas. 387. Acesso em 26 de Setembro de 2019, disponível em <http://www.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/institucional/concea/arquivos/publicacoes/ebook-normativas.pdf>

BRASIL (5 de Julho de 2012). *Diário Oficial da União*. Acesso em 15 de Outubro de 2019, disponível em PORTARIA Nº - 491, DE 3 DE JULHO DE 2012: https://www.incqs.fiocruz.br/images/stories/incqs/bracvam/Portaria_491_cria_RENAMA.pdf

Duffus, J. H., Templeton, D. M., & Nordberg, M. (2009). *Concepts in Toxicology* (1 ed.). Reino Unido: Royal Society of Chemistry. Acesso em 13 de 08 de 2019, disponível em <https://books.google.com.br/books?id=MK2WC70lu3MC&printsec=frontcover&dq=IUPAC+risk+toxicology&hl=pt-BR&sa=X&ved=0ahUKEwjaiqGZoIDkAhXdIbkGHfHIBzAQ6AEIKTAA#v=onepage&q=IUPAC%20risk%20toxicology&f=false>

Feijó, A. S. (2011). Ensino e Pesquisa em modelo animal. Em J. Closet, A. S. Feijó, & M. G. Oliveira, *Bioética: uma visão panorâmica* (1 ed., Vol. 1, pp. 21-35). Porto Alegre: EDIPUCRS.

Furtado, M. S., & Duarte, S. V. (2015). *Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) em ciências sociais aplicadas* (1 ed.). Rio de Janeiro: Saraiva.

Gallo, M. A. (2012). História e Abrangência da Toxicologia. Em C. D. Klaassen, & J. B. Watkins III, *Fundamentos em Toxicologia de Cassaret e Doull* (2 ed., pp. 1-3). Porto Alegre, Brasil: AMGH Editora.

Huet, F., Severino-Freirec, M., Chéreta, J., Gouina, O., Praneufd, J., Pierrea, O., . . . Gall-Ianottoa, C. L. (2018). Reconstructed human epidermis for in vitro studies on atopic. *Journal of Dermatological Science*, 89(3), 213–218. Acesso em 24 de Agosto de 2019, disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923181117309866>

JONG, W. H., CARRAWAY, J. W., & GEERTSMA, R. E. (2012). In vivo and in vitro testing for the biological safety evaluation of biomaterials and medical devices. Em J. Bountrand, *Biocompatibility and performance of medical devices - Woodhead publishing series in Biomaterials* (Vol. 50, pp. 120-158). Cambridge: Elsevier.

Maia, M., Klein, E. S., Monje, T. V., & Pagliosa, C. (Setembro de 2010). Reconstrução da estrutura facial por biomateriais: revisão de literatura. *Rev. Bras. Cir. Plást. (Impr.)*, 25(3), 566-572. Acesso em 07 de Agosto de 2019, disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-51752010000300029&lng=en&nrm=iso

OECD. (26 de Julho de 2013). *Test No. 439: In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method*. (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4) Acesso em 11 de Setembro de 2019, disponível em https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-439-in-vitro-skin-irritation-reconstructed-human-epidermis-test-method_9789264242845-en

OECD. (11 de Julho de 2014). *Environment, Health and Safety Publications - Series on Testing and Assessment n° 203*. Acesso em 26 de Setembro de 2019, disponível em GUIDANCE DOCUMENT ON AN INTEGRATED APPROACH ON TESTING AND ASSESSMENT (IATA) FOR SKIN CORROSION AND IRRITATION: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2014\)19&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)19&doclanguage=en)

OECD. (2019). *Organisation for Economic Co-operation and Development*. Acesso em 26 de Setembro de 2019, disponível em Better policies for better lives: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicalsandrelateddocuments.htm>

Oliveira, A. M. (2018). *Manual de TCC aplicado ao curso de direito* (1 ed.). Rio de Janeiro: Gramma.

Pellevoisin, C., Videau, C., Briotet, D., Grégoire, C., Tornier, C., Alonso, A., . . . Seyler, N. (Agosto de 2018). SkinEthic™ RHE for in vitro evaluation of skin irritation of medical device extracts. *Toxicology in Vitro*, 50, 418-425. Acesso em 13 de Setembro de 2019, disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233318300092>

PJ, U., J, A., & L., T. (Março de 2003). An analysis of ISO intracutaneous reactivity test results to justify a reduction in animal requirements. *Lab Anim* (32), 26-27.

Presgrave, O. A., Moura, W. C., Silva, C. C., Balottin, L. B., Delgado, I. F., & Granjeiro, J. M. (2018). Métodos alternativos ao uso de animais. Em C. Estrela, *Metodologia Científica: ciência, ensino e pesquisa* (3 ed., p. 370). Porto Alegre, Brasil: Artes Médicas.

Raposo, V. L. (2013). A responsabilidade do produtor por danos causados por dispositivos médicos. *Revista do Instituto do Direito Brasileiro (RIDB)*(5), 4275-4339 . Acesso em 20 de 06 de 2019, disponível em https://www.researchgate.net/profile/Vera_Raposo/publication/264497440_A_Responsabilidade_do_Produtor_por_Danos_Causados_por_Dispositivos_Medicos_Producer_Liability_for_Damages_Caused_by_Medical_Devices/links/53e1c03c0cf2d79877a9d301/A-Responsabilidade-do

Reeve, L., & Baldrick, P. (2017). Biocompatibility assessments for medical devices - evolving regulatory considerations. *Expert Review of Medical Devices*, 14, 161-167. Acesso em 22 de Junho de 2019, disponível em <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17434440.2017.1280392>

Sehnem, D. P., Benamor, L., Jesus, L. d., Valentim, R. d., Souza, E. T., Zambuzzi, W. F., & Takamori, E. R. (2012). MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE BIOMATERIAIS. *Rev Rede de Cuidados em Saúde*, 6(2), 1-12. Acesso em 10 de Setembro de 2019, disponível em <http://publicacoes.unigranrio.edu.br/index.php/racs/article/view/1894/882>

Simeonova, R., & Danchev, n. (2013). Assessment of surgical sutures Polymed® by intracutaneous irritation test in rabbits. *Interdiscip Toxicol.*, 6(2), 99-102. doi: 10.2478/intox-2013-0017

Teitelbaum, D. T. (2017). Introdução à toxicologia ocupacional e ambiental. Em B. G. Katzung, & A. J. Trevor, *Farmacologia Básica e Clínica* (13 ed., pp. 971-986). Porto Alegre: AMGH.

WHO. (2019). *Medical Device – Full Definition*. Acesso em 13 de Setembro de 2019, disponível em World Health Organization: https://www.who.int/medical_devices/full_definition/en/