

**“Proposta de estruturação de uma plataforma tecnológica para realização
de ensaios pré-clínicos na Fundação Oswaldo Cruz”**

por

Letícia Barreiro Gomes

*Dissertação apresentada com vistas à obtenção do título de Mestre
Modalidade Profissional em Saúde Pública.*

*Orientadora principal: Prof.^a Dr.^a Cristiane Machado Quental
Segunda orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria das Graças Müller de Oliveira Henriques*

Rio de Janeiro, julho de 2011.

Catálogo na fonte
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica
Biblioteca de Saúde Pública

G633p Gomes, Leticia Barreiro.
Proposta de estruturação de uma plataforma tecnológica
para realização de ensaios pré-clínicos na Fundação Oswaldo. /
Leticia Barreiro Gomes. - 2011.
78 f.: tab.; graf.
Orientador: Cristiane Machado Quental
Maria das Graças Müller de Oliveira Henriques
Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública
Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, 2011.
1. Indústria Farmacêutica. 2. Inovação. 3. Laboratórios -
normas. 4. Farmacocinética. 5. Desenvolvimento Tecnológico.
6. Preparações Farmacêuticas. I. Título.

CDD 615.19

*Aos meus amores, Fernando, Maria Fernanda e João Arthur,
por existirem e fazerem parte de minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar os caminhos nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades;

Às minhas orientadoras Profas Cristiane Quental e Graça Henriques, por me auxiliarem nesse momento de reflexão;

À minha querida chefe, Dra. Claude Pirmez, por acreditar em mim e me dar o apoio de que precisava;

À Profa. Helena Zamith, Prof. Francisco Paumgarten e Prof. Jarbas pela paciência no decorrer de meu trabalho;

Ao meu pai, por sempre ter me incentivado a ler e a estudar;

À minha mãe, pois sem ela não estaria aqui;

Ao meu irmão, que mesmo distante me ajudou bastante;

Aos meus sogros, que foram e são um exemplo de vida;

Às amigas de trabalho, Fátima, Renata e Rosane, que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando, incentivando e reclamando da correria;

Aos meus colegas de turma do mestrado, pela caminhada em conjunto;

Ao pessoal da secretaria, em especial à Marluce e ao Wellington, pelo carinho com que sempre nos trataram;

A todos os professores de minha vida pelo convívio e aprendizado.

RESUMO

Os ensaios pré-clínicos são uma importante engrenagem presente na dinamização do Complexo Econômico-Produtivo da Saúde, já que tanto podem propiciar a inovação nesse sistema quanto interromper uma pesquisa.

As fases de desenvolvimento de um novo fármaco, de forma geral, podem ser divididas em três grandes etapas: descoberta (estudos *in vitro*), pré-clínica (estudos *in vivo*) e clínica (estudos em humanos). O presente trabalho apresenta uma proposta de estruturação de uma plataforma em nível teórico para realização de ensaios pré-clínicos toxicológicos, baseada nas competências para execução desse tipo de teste. O foco dessa estrutura são (dois) testes da etapa da descoberta (teste de AMES e teste de micronúcleo) e 3 (três) testes da etapa pré-clínica (toxicologia de dose única, toxicologia de dose repetida e farmacocinética).

Para estruturar a plataforma em questão, foram utilizadas as Boas Práticas de Laboratório, as normas do International Conference on Harmonization (ICH), da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) e da Organização Mundial de Saúde (OMS).

Da amplitude das Boas Práticas de Laboratório (BPL), os itens trabalhados foram os recursos (humanos, infraestrutura e equipamentos) e os sistemas teste (animais).

Considerou-se que as competências para realização de ensaios pré-clínicos podem ser divididas em quatro atividades principais: o desenho do estudo e a análise dos resultados; a gestão dos processos; a execução dos testes propriamente ditas e o controle.

Sendo assim, pelo fato de os testes pré-clínicos serem bastante diferentes entre si, dependendo da doença ou do órgão estudado, eles requerem recursos humanos bastante especializados e específicos, o que é raro no mercado de trabalho. Além disso, a infraestrutura no que se refere ao prédio onde funcionam os testes e seus equipamentos precisam seguir a rigidez das BPL, que não é simples e nem de baixo custo. Os animais utilizados devem ser de alta qualidade, e esse não é um insumo de fácil acesso.

ABSTRACT

The preclinical tests play an important role in the dynamization of the Economic-Productive Health Complex, as it can not only foster the innovation of this system but also interrupt a research. In general, there are three main phases in the development of a new drug: finding (in vitro studies), preclinical (in vivo studies) and clinical (human studies).

This paper presents a proposal for structuring a theoretical level platform for conducting preclinical toxicology test based on skills for implementing this type of test. The focus of this structure is two tests of the discovery phase (Ames test and micronucleus test) and three tests during the preclinical phase (single dose toxicity, repeated dose toxicity and pharmacokinetics).

In order to structure the referred platform, some regulations were examined: the Good Laboratory Practice (GLP), the International Conference on Harmonization (ICH), the Organization for Cooperation and Economic Development (OECD) and the World Health Organization (WHO). Regarding the Good Laboratory Practice (GLP), the items that were focused were resources (human, installation and equipment) and the testing system (animals).

It was considered that the competencies for the execution of preclinical testes can be divided into four different main activities: the design of the study and the result analysis; the process management, the tests themselves and control. Thus, due to the differences existent among the scopes of the preclinical tests, depending on the organ or the disease studied, it requires specialized and specific human resources, which is very rare in the market. Besides, the infrastructure regarding the building and its equipments must follow de GLP regulations, which is neither common nor economical. The animals must be of a high quality, and it is not easy to find in Brazil.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E QUADROS.....	7
LISTA DE ABREVIACÕES.....	8
1.INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA.....	9
2. OBJETIVOS.....	18
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3. REFERENCIAL TEÓRICO-CONCEITUAL	18
3.1. INOVAÇÃO EM SAÚDE	18
3.2. CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO FÁRMACO.....	20
3.3. DESCOBERTA DA SUBSTÂNCIA A SER ANALISADA	21
3.3.1. <i>Descoberta da molécula líder</i>	22
3.3.2. <i>Otimização da molécula líder / Estudos in vitro</i>	23
3.3.3. <i>Estudos in vivo</i>	25
3.3.4. <i>Formulação do medicamento</i>	25
3.3.5. <i>Ensaio clínico</i>	26
3.4. REQUISITOS PARA A REALIZAÇÃO DE ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS COM VISTAS AO DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO.....	29
3.4.1. <i>Estudos Pré-clínicos Exigidos para Aprovação nos Órgãos de Vigilância Sanitária</i>	29
3.4.2. <i>Boas Práticas de Laboratório (BPL)</i>	33
3.4.3. <i>Recursos / custos envolvidos</i>	37
4. METODOLOGIA.....	40
4.1. IDENTIFICAR E DETALHAR OS TESTES PRÉ-CLÍNICOS NECESSÁRIOS PARA QUE UMA SUBSTÂNCIA PASSE PARA A FASE CLÍNICA	40
4.2. ESTRUTURAR, EM NÍVEL TEÓRICO, A PLATAFORMA TECNOLÓGICA PARA REALIZAÇÃO DE ENSAIOS TOXICOLÓGICOS PRÉ-CLÍNICOS.....	40
4.3. PROPOR AÇÕES DE CURTO, MÉDIO E LONGO PRAZO PARA O ESTABELECIMENTO DA PLATAFORMA TECNOLÓGICA PARA REALIZAÇÃO DE ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS TOXICOLÓGICOS NA FIOCRUZ.	41
5. RESULTADOS/DISCUSSÕES	42
5.1. DETALHAMENTO DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO	42
5.1.1. <i>Recursos – organização e pessoal</i>	42
5.1.2. <i>Recursos – infraestrutura</i>	44
5.1.3. <i>Recursos – equipamentos</i>	46
5.1.4. <i>Caracterização – substância teste e substância de referência</i>	47
5.1.5. <i>Caracterização – sistema teste (animais)</i>	48
5.1.6. <i>Regras – protocolo ou plano de estudo</i>	51
5.1.7. <i>Regras – procedimentos escritos</i>	51
5.1.8. <i>Resultados – dados brutos</i>	51
5.1.9. <i>Resultados – relatório do estudo</i>	52
5.1.10. <i>Resultados – arquivos</i>	52
5.1.11. <i>Resultados – garantia da qualidade</i>	53
5.2. DETALHAMENTO DOS TESTES TOXICOLÓGICOS	53
5.2.1. <i>in vitro – teste de genotoxicidade – teste de mutação reversa em bactérias</i>	54
5.2.2. <i>in vitro – teste de genotoxicidade – aberração cromossômica – teste de micronúcleo</i>	56
5.2.3. <i>in vivo – teste de genotoxicidade – aberração cromossômica realizado com células de medula óssea de roedores</i>	58
5.2.4. <i>in vivo – farmacocinética (bioquímica toxicológica);</i>	59
5.2.5. <i>in vivo – toxicidade aguda;</i>	61
5.2.6. <i>in vivo – toxicidade de dose repetida.</i>	62

Excluído: 50

Excluído: 52

Excluído: 60

5.3. ESTRUTURAÇÃO DA PLATAFORMA.....	63
5.3.1. <i>Infraestrutura</i>	63
5.3.2. <i>Recursos humanos</i>	68
5.3.3. <i>Estratégia de Implementação da Plataforma na Fiocruz</i>	69
5.3.4. <i>Ações de Curto, Médio e Longo Prazo</i>	71
6. CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS	75
ANEXO I	82
ANEXO II.....	85
ANEXO III	92
ANEXO IV.....	93
ANEXO V	95
ANEXO VI.....	96

LISTA DE FIGURAS E QUADROS

FIGURAS

Figura 1 – Ranking das 20 maiores empresas farmacêuticas/biotecnológicas – números referentes às vendas totais e aos investimentos em P&D dos anos 2005 e 2006.

Figura 02 – Razões pelas quais as substâncias podem não passar à fase seguinte.

Figura 03 – Visão geral do processo de desenvolvimento de um novo fármaco.

Figura 04 – Esquema demonstrativo das barreiras encontradas pelas substâncias no caminho entre a sua administração e a chegada ao alvo terapêutico.

Figura 05 – Interação dos campos mais importantes da biologia na pesquisa dos estudos pré-clínicos e clínicos de segurança e eficácia.

QUADROS

Quadro 1 – Relação entre margem bruta de lucro e a complexidade tecnológica e de marketing.

Quadro 2 – Número de substâncias candidatas em cada fase da descoberta / desenvolvimento clínico.

Quadro 3 – Exemplos de substâncias que geram metabólitos ativos e substâncias cujos metabólitos são utilizados como fármacos.

Quadro 4 – Conjunto de Conhecimentos do Pessoal Responsável pelo Funcionamento de uma Instalação Teste.

LISTA DE ABREVIACÕES

CEIS – Complexo Econômico Industrial da Saúde

P&D – Pesquisa e Desenvolvimento

PNCTIS – Política Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

HTS – High Throughput Screening

SAR – Structure Activity-Relationship (Relação Estrutura-Atividade)

SPR – Structure Property-Relationship (Relação Estrutura-Propriedade)

STR – Structure-Toxicity Relationship (Relação Estrutura-Toxicidade)

ADME – Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção

BPL – Boas Práticas de Laboratório

BPF – Boas Práticas de Fabricação

BPC – Boas Práticas Clínicas

OMS – Organização Mundial de Saúde

SWG – Scientific Group on GLP issues (Grupo Científico em Questões de BPL)

OCDE – Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

FDA – Food and Drug Administration (Administração de Drogas e Alimentos)

EMA – European Medicines Agency (Agência Europeia de Medicamentos)

ICH – International Conference on Harmonization (Conferência Internacional para Harmonização)

NCI – National Cancer Institute (Instituto Nacional do Câncer)

WHO – World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)

CGCRE – Coordenação Geral de Acreditação

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

MAD – Mutual Acceptance of Data (Aceitação Mútua de Dados)

SPF – Specific Pathogen Free (Livre de Patógenos Específicos)

CRO – Contract Research Organization (Organização de Contratos de Pesquisa)

POP – Procedimento Operacional Padrão

MNvit – Teste *in vitro* de micronúcleo

1.INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

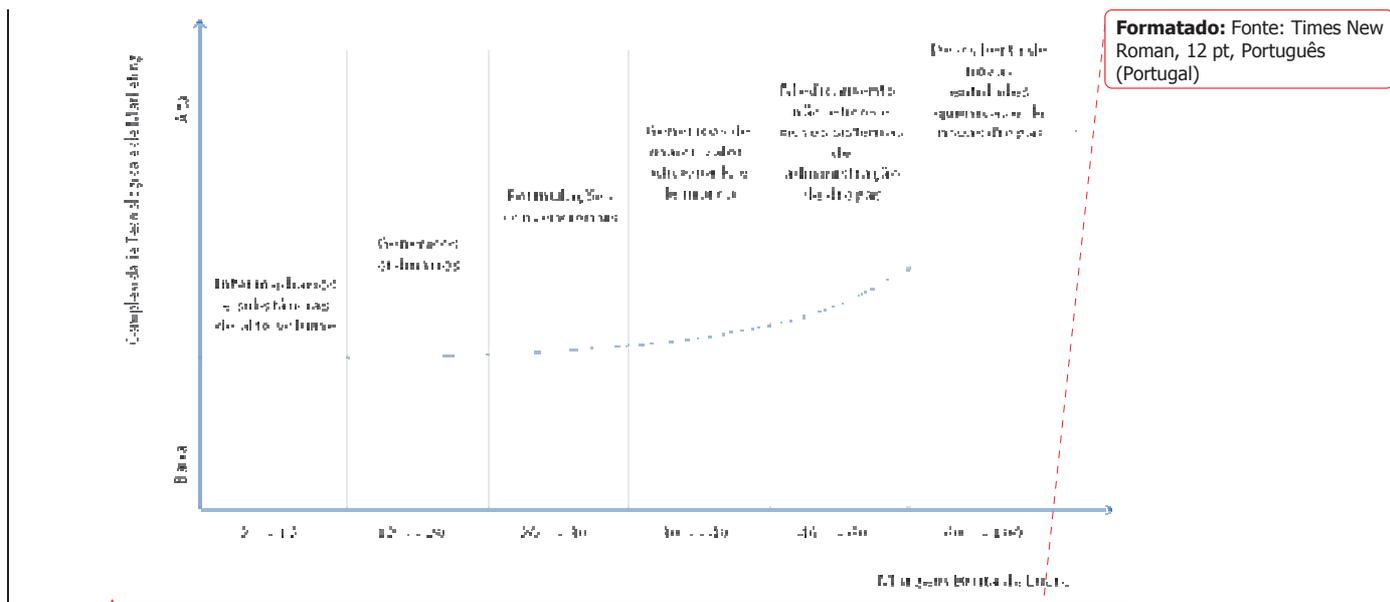
Nos últimos 30 anos ocorreram avanços sem precedentes na medicina, produzindo substanciais ganhos em termos de expectativa de vida. Um dos principais responsáveis por esta revolução é a indústria farmacêutica mundial, que a partir dos anos 90, começou a lançar no mercado, medicamentos extremamente eficazes. De poderosos analgésicos a fármacos específicos para o tratamento de doenças graves, devolveu-se a milhões de pessoas uma qualidade de vida que parecia perdida para sempre. No entanto, esta fantástica revolução deixou de diferentes modos, a maior parte da população mundial à margem. Nos países em desenvolvimento, cerca de 80% da população mundial respondem por apenas 20% das vendas mundiais de remédios. Para estas pessoas, o desequilíbrio entre suas necessidades e a disponibilidade de medicamentos é, na maioria das vezes, fatal (Henriques et al, 2005).

A indústria farmacêutica é um setor vital para que um Governo possa exercer uma de suas principais responsabilidades, que é garantir o atendimento das necessidades básicas de saúde das pessoas. No Brasil, a universalidade de acesso a medicamentos é garantida pela Constituição Brasileira e prevê a disponibilização de remédios em hospitais e postos de saúde. Isto requer uma ação concatenada, da indústria farmacêutica e do governo, gerenciada pela esfera federal.

A viabilidade e eficácia do fornecimento permanente de medicamentos à população dependem diretamente da capacidade de produção local, que por sua vez depende do nível de conhecimento do processo de produção assim como da capacidade inovativa destas indústrias. Sendo assim, torna-se vital que o País detenha o conhecimento científico e tecnológico que levam ao desenvolvimento de novos fármacos. (Henriques et al, 2005; Baetas, 2004).

O Complexo Econômico-Industrial da Saúde (CEIS) e, mais especificamente, a indústria farmacêutica são movidos pelo desenvolvimento tecnológico e pela inovação. No Brasil a grande maioria das indústrias farmacêuticas, tanto as de capital nacional como estrangeiro, realiza apenas as etapas de formulação e comercialização de medicamentos. Como consequência, o desenvolvimento de fármacos inovadores, que é a base competitiva da indústria farmacêutica, é praticamente inexistente no país e causa um atraso tecnológico e uma dependência econômica intolerável para a saúde pública (Gadelha, 2006).

Apesar disto, o setor farmacêutico representa um negócio altamente lucrativo. Os lucros provenientes das vendas superam em muito o investimento (Figura 1). Exemplo disso, em 2001 as novas substâncias utilizadas no tratamento de doenças cardiovasculares e do sistema nervoso central renderam 90 bilhões de dólares aos maiores laboratórios do mundo. A indústria farmacêutica, como um todo, movimenta anualmente 363 bilhões de dólares e está crescendo a uma taxa de 14%. Pode-se verificar uma relação entre uma alta margem bruta de lucro e o investimento em tecnologia complexa, como mostra a Figura 01 (Barlett & Ghoshal, 2000).



Fonte: tradução de BARTLETT & GHOSHAL, 2000

Figura 1: Relação entre a margem bruta de lucro e a complexidade tecnológica e de marketing

A indústria farmacêutica é um negócio tão vantajoso, que a cada ano a indústria mundial supera seus gastos com pesquisa e desenvolvimento de novas substâncias. O Quadro 1 apresenta o investimento em Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) e as vendas

totais das 20 maiores empresas farmacêuticas ou de biotecnologia e o aumento de investimento do ano de 2005 para 2006.

Quadro 1: Ranking das 20 maiores empresas farmacêuticas / biotecnológicas – números referentes às vendas totais e aos investimentos em P&D dos anos 2005 e 2006

20 maiores empresas Farmacêuticas/Biotecnologia	Vendas Totais (bilhões de dólares)			Investimento em P&D (bilhões de dólares)		
	2006	2005	Crescimento (%)	2006	2005	Crescimento (%)
Pfizer	45,3	44,4	2,10	7,6	7,30	4,70
	33,6					
Sanofi-Aventis	8	33,42	0,90	5,8	5,27	9,50
GlaxoSmithKline	37,1	34,2	8,50	6,4	5,7	11,20
AstraZeneca	26,1	23,3	12,00	3,9	3,4	15,50
	31,9					
Roche	8	26,19	22,10	6,34	5,46	16,20
Johnson & Johnson	23,3	22,3	4,20	7,6	6,4	18,90
Merck	22,3	21,7	2,60	4,3	3,8	11,60
Novartis	22,5	20,3	11,30	5,4	4,8	10,70
Bristol-Myers Squibb	13,8	15,3	-9,40	3,1	2,7	11,70
Wyeth	16,9	15,3	10,20	3,1	2,8	13,00
Eli Lilly	15,7	14,6	7,10	3,1	3	3,50
Abbott	12,4	13,3	-6,80	2,3	1,8	23,80
Amgen	13,9	12	15,30	3,4	2,3	45,70
Schering Plough	8,6	7,6	13,20	2,2	1,9	17,20
Novo Nordisk	6,79	5,88	14,60	1,05	0,92	24,20
Genentech	7,6	5,5	39,20	1,8	1,3	40,50
Biogen Idec	1,8	1,6	10,20	0,7	0,8	-4,80
Gilead	2,6	1,8	43,00	0,4	0,3	38,20
Genzyme	1,5	1,3	15,00	0,6	0,5	29,20
Solvay	3,39	3	14,50	0,79	0,66	19,50
MedImmune	1,2	1,2	0,00	0,4	0,4	17,10

Fonte: elaboração própria, com base no Parexel's (2007/2008)

Infelizmente todo este investimento é feito apenas em países desenvolvidos, onde os centros de P&D das multinacionais se concentram. Enquanto as empresas multinacionais investem entre 15 e 20% de suas vendas em P&D, as empresas nacionais investem aproximadamente 1% (Rover, 2004). Isso demonstra que as indústrias farmacêuticas brasileiras investem pouco em P&D e mesmo assim, apenas na última etapa da pesquisa clínica, uma fase em que o produto já está patenteado, sendo propriedade de alguma indústria multinacional, sendo conseqüentemente pouco inovadoras.

Com este cenário, é fácil compreender que a ausência de uma participação ativa na área farmacêutica implica em sérios problemas para um país em desenvolvimento. Além de não gerar empregos e divisas, o governo passa a sofrer de uma forte dependência de uma indústria multinacional e altamente competitiva, deixando todo um setor ligado a área da saúde, ao sabor das forças de economias de mercado.

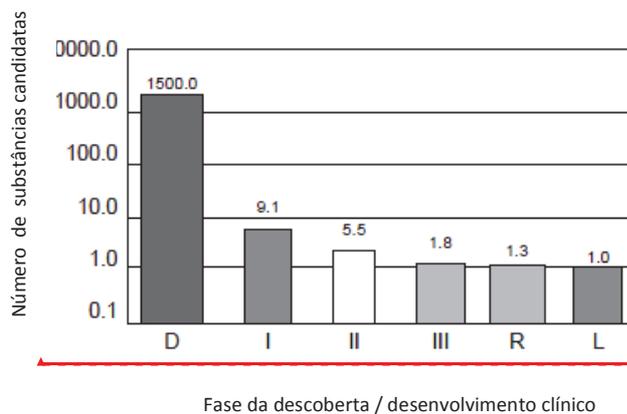
Os governos têm responsabilidade final de assegurar o atendimento das necessidades básicas de saúde das pessoas. Eles têm ainda a responsabilidade de tomar as ações apropriadas quando as forças do mercado deixam de atender tais necessidades. Nas últimas décadas, apesar da clara evidência do colapso do setor farmoquímico nos países em desenvolvimento, as iniciativas governamentais têm sido no mínimo, inadequadas. No Brasil, por exemplo, a partir da década de 70 ocorreram frágeis iniciativas de se incentivar a internalização da produção dos princípios ativos no país. No entanto, a ausência de uma política tecnológica consistente ao longo dos anos levou a um cenário atual no qual 80% dos fármacos são importados. Somente nos últimos 4 anos começou-se a dar alguma importância à área, com iniciativas voltadas principalmente para a produção de farmoquímicos. É importante citar que iniciativas como a lei de genéricos e a produção de medicamentos antivirais surtiram excelente efeito em curto prazo.

No entanto, iniciativas voltadas para a P&D de novos medicamentos ainda são isoladas e concentradas nas universidades e institutos de pesquisa, e contam com pouco apoio governamental (Pieroni et al, 2009). O país ainda não conta com centros de P&D preparados para atender os pré-requisitos para o registro de novos medicamentos. As áreas de farmacologia pré-clínica e toxicologia, etapas de desenvolvimento pré-clínico que não são tradicionalmente realizadas no Brasil, são as mais críticas, sendo uma etapa limitante para o desenvolvimento de fármacos no país, prejudicando a inovação nesse

setor, comprometendo a dinamização do Complexo Econômico-Produtivo da Saúde (CEIS).

Os testes pré-clínicos, de maneira geral, avaliam parâmetros farmacocinéticos, farmacológicos e toxicológicos, de forma a avaliar a segurança e a eficácia dos compostos candidatos a fármacos, por meio de estudos realizados *in vitro*, *in vivo*, *in silico* e *ex-vivo* (Dickson & Gagnon, 2001). Sendo assim, os ensaios pré-clínicos tanto podem propiciar a inovação nesse sistema quanto interromper uma pesquisa. (Gadelha et al, 2009)

A interrupção de uma pesquisa dá-se, na maior parte das vezes, na fase pré-clínica, como demonstra a Figura 2.



Formatado: Fonte: Times New Roman, 12 pt, Negrito, Não verificar ortografia ou gramática

Fonte: Erhardt(2009)

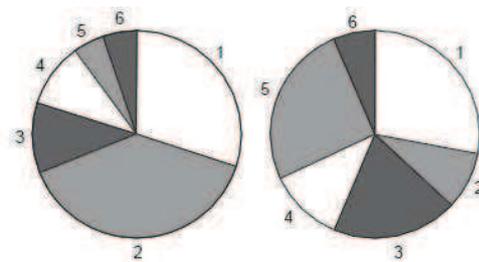
As letras correspondem a D= Estágios de descoberta e de desenvolvimento pré-clínico; I, II e III = Fases de desenvolvimento clínico; R = Registro regulatório; L = Lançamento no Mercado

Figura 2 – Número de substâncias candidatas em cada fase da descoberta/desenvolvimento clínico.

Existem diversas novas substâncias investigadas todos os anos que demonstram ter atividade de diversas formas, tanto em sistemas de modelo animal quanto em cultura de células. O desenvolvimento de um medicamento é um processo longo, trabalhoso e de custo bastante elevado. Em geral, de cada 10.000 moléculas identificadas com potencial terapêutico, somente 1000 chegam à fase de investigação pré-clínica (Lim, Garnsey & Gregory, 2006). Dessas, apenas 10 serão estudadas em seres humanos e só

uma delas chegará ao mercado, após aprovação e registro para uso terapêutico. Levando-se em consideração os custos dos insucessos, o desenvolvimento de uma substância custa, em média, 800 milhões de dólares (Dickson & Gagnon, 2001). A figura 2 representa o grande número de compostos que são tipicamente testados para que seja feito o avanço ao próximo estágio do processo geral de descoberta de uma nova substância, para que, em seu estágio final, seja lançada no mercado.

O motivo pelo qual essas substâncias vão sendo descartadas ao longo do processo estão explicitadas na Figura 3. Pode-se verificar que houve uma grande redução de substâncias cuja interrupção se dá devido a baixa propriedade farmacocinética (absorção, distribuição, metabolismo e excreção), no entanto, aumentou o número de substâncias descartadas por elevada toxicidade em animais. Esses números são facilmente explicados pelos avanços observados nos estudos computacionais e *in vitro*, que prevêem as propriedades farmacocinéticas de a substância entrar em estudos com animais (Merlot, 2010).



Fonte: Erhardt (2009)

Os números correspondem a 1 – Ineficácia (30%); 2 – Baixo perfil farmacocinético (PK) / absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) (39%); 3 – Elevada toxicidade em animais (11%); 4 – Efeitos adversos em humanos (10%); 5 – Motivos comerciais (5%); 6 – Outros (5%). No gráfico da direita, são mostrados os resultados de pesquisas mais recentes: os percentuais específicos referentes aos tópicos de mesma numeração no gráfico anterior são: 1 – (28%); 2 – (9%); 3 – (19%); 4 – (12%); 5 – (26%); 6 – (6%).

Figura 3 – Razões pelas quais as substâncias não passam à fase seguinte

Embora o Brasil possua um mercado farmacêutico forte, a indústria aqui instalada desenvolve basicamente atividades de formulação e embalagem, a partir de princípios ativos importados. A questão da dependência externa de fármacos e medicamentos tem sido recorrente e esteve entre as principais questões levantadas nas Conferências Nacionais de Saúde e de C&T em Saúde (Vieira & Ohayon, 2006). Tal dependência é considerada por Gadelha (2006) como estrutural, resultante da baixa capacidade de inovação da indústria nacional.

Na cadeia de desenvolvimento de um medicamento, os ensaios pré-clínicos são um entrave, já que são pouco desenvolvidos no país. Pouco se tem realizado no sentido de desenvolver essa área de pesquisa. A maioria das empresas brasileiras encontra-se em processo de aprendizado, não possuindo ainda todas as competências necessárias para elaborar de forma independente seus próprios protocolos para condução dos testes pré-clínicos. A demanda atual por testes pré-clínicos por parte da indústria nacional não sustenta, de forma isolada, as empresas prestadoras desses serviços. (Pieroni et al, 2009) Sendo assim, é interessante que uma instituição pública possa oferecer esse tipo de serviço, de forma a possibilitar que a indústria nacional possa utilizá-lo. Com o tempo, passa-se a ter escala nessa prestação de serviços. Esse setor tem sido alvo constante de discussões em foros governamentais, no entanto, somente nos últimos anos é que passou a ser considerado como prioritário e incluído na política industrial do atual governo. A necessidade de estímulo à P&D farmacêutica aparece como relevante em diversos programas governamentais para promoção da inovação: Fapesp (1995/1998); Programa de Parceria para a Inovação Tecnológica (PIPE); Programa de Inovação Tecnológica na Pequena Empresa (PITE); Finep – Projeto Inovar (2001); nos debates do MDCI – Fórum de Competitividade da Cadeia Produtiva Farmacêutica; e do MS “Acesso aos medicamentos, compras governamentais e inclusão social”, para a identificação dos medicamentos de alto custo e validação dos laboratórios oficiais; e nas iniciativas do BNDES – Seminários sobre o Complexo Industrial da Saúde (anos 2002 e 2003) que resultaram no Profarma (2004); e no Projeto Inovação em Saúde, Fiocruz, 2002 (Vieira & Ohayon, 2006).

O Decreto nº 6.041, de fevereiro de 2007 institui a Política de Desenvolvimento da Biotecnologia, que prevê fomentar a criação de uma rede de instituições e empresas, públicas e privadas, com o foco em testes pré-clínicos, adequada às normas internacionais de certificação de qualidade; Induzir e fortalecer os centros de excelência em testes pré-clínicos em diversas regiões do território nacional, com vistas a estimular o desenvolvimento regional nas áreas de apoio da bioindústria; estruturar programa de

infra-estrutura em biotecnologia destinado a fomentar a implantação e aperfeiçoamento de: biotérios, Testes Pré-Clínicos, Laboratórios Públicos de P&D, Redes de P,D&I, Institutos de Pesquisa e Universidades (ICTs).

Em âmbito institucional, a justificativa do estudo reside em primeiro lugar na missão da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), que é a articulação entre a geração de conhecimento e o desenvolvimento de tecnologias. A Instituição tem implementado várias iniciativas nesse sentido tais como a criação do Programa de Desenvolvimento Tecnológico de Insumos em Saúde (PDTIS), que é um programa estratégico indutor de projetos, que tem como missão o fomento a projetos que tratem de desenvolvimento tecnológico visando à geração de produtos que causem impacto na saúde pública. O PDTIS tem dentre seus objetivos estratégicos desenvolver vacinas, medicamentos, diagnósticos e produtos tecnológicos prioritários para a saúde e o meio ambiente visando a uma possível transferência para parceiros industriais; prestar serviços à comunidade científica da Fiocruz por meio de Plataformas Tecnológicas; aperfeiçoar um sistema de indução, fomento e gerenciamento de projetos de desenvolvimento tecnológico. Esse fato faz com que a pesquisa realizada nesses projetos seja focada em resultados, na criação de produtos inovadores que possam gerar patentes e alcançar o mercado.

Além do PDTIS, a Fiocruz está construindo o Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde, que está em fase adiantada de construção e terá um papel de destaque no desenvolvimento tecnológico na área da saúde, preenchendo uma lacuna na cadeia de desenvolvimento de vacinas, reagentes para diagnóstico e de medicamentos de origem biotecnológica, entre outros. O CDTS trabalhará em vários projetos atendendo às demandas já existentes de todas as Unidades da Fiocruz, destacadamente Farmanguinhos, Biomanguinhos, ICC, IOC, entre outros. Além disso, o CDTS fortalecerá o setor produtivo nacional, podendo, em particular, trabalhar com incubação de produtos em seus laboratórios flexíveis, atendendo a demanda de empresas públicas

e privadas. Destaca-se também o desenvolvimento de ações com o objetivo de articular

e integrar, de forma eficaz e eficiente, as infraestruturas de desenvolvimento tecnológico, inovação e produção da Fiocruz, especialmente das Unidades de Produção e DT&I, a partir das necessidades do SUS.

Dentre as prioridades estabelecidas pela Fiocruz para o período atual, descritas no documento político-estratégico maior, o Plano Quadrienal da Fiocruz (2011-2014), dos vinte e três macroprojetos propostos, um deles destaca a questão das plataformas tecnológicas de produção, do desenvolvimento tecnológico e da inovação, tudo isso para dar suporte ao fortalecimento do CEIS no Brasil. Esse macroprojeto apresenta dois objetivos estratégicos: ampliar e revisar periodicamente o conjunto de projetos de pesquisa e desenvolvimento, produtos, bens, processos e serviços, atuando em áreas estratégicas para o SUS e contribuindo para a melhoria da capacitação tecnológica nacional; além de fortalecer o desenvolvimento de produtos e processos de impacto sanitário investindo em novas rotas tecnológicas. A criação da plataforma proposta pode contribuir com a melhoria da capacitação em ensaios pré-clínicos no Brasil, permitindo o desenvolvimento de novos medicamentos no país.

No âmbito da Fiocruz, vale destacar ainda que a instituição conta com profissionais competentes, possui capacidade de captação de recursos em órgãos externos, bem como possui infraestrutura apropriada e disponível para que se possa dar início à instalação da plataforma proposta.

Nesta perspectiva, este trabalho se propõe a dar uma contribuição para que se alcance um desenvolvimento de capacidades internas no âmbito da pesquisa e desenvolvimento que minimize a dependência externa de nosso país.

O presente trabalho está estruturado em 6 seções, sendo a primeira dedicada à introdução, justificativa e relevância do tema proposto. A segunda seção identifica os objetivos dessa dissertação. A terceira seção apresenta um referencial teórico-conceitual do tema, passando pela inovação em saúde, caracterizando ensaio pré-clínico e definindo os pré-requisitos necessários para que uma substância passe ao estágio clínico. A quarta seção aborda a metodologia adotada e a quinta seção define resultados da pesquisa, abrangendo o conjunto de testes contemplados na plataforma e apresenta a estruturação teórica da plataforma tecnológica para realização de ensaios pré-clínicos toxicológicos, incluindo a crítica dos especialistas. Além disso, define as ações de curto, médio e longo prazo para que se estabeleça a plataforma. A sexta seção apresenta as conclusões do trabalho.

Com essa proposta, espera-se que possa ser estruturada, em nível teórico, uma plataforma para realização de ensaios pré-clínicos toxicológicos com eficiência e dentro de padrões de excelência da Fundação Oswaldo Cruz. Espera-se ainda, que a plataforma tecnológica, uma vez instalada, possa prestar serviço não só para todas as unidades da

Fiocruz, como também para a comunidade científica brasileira e, ainda, para a indústria farmacêutica.

2. OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho é propor a estruturação teórica de uma plataforma tecnológica para realização de ensaios pré-clínicos toxicológicos na Fiocruz.

2.1. Objetivos específicos

- Identificar e detalhar, de acordo com a legislação vigente, os testes toxicológicos pré-clínicos necessários para que um fármaco candidato passe à fase de estudos clínicos;

- estruturar, em nível teórico, a plataforma tecnológica para realização de ensaios toxicológicos pré-clínicos;

- propor ações de curto, médio e longo prazo para o estabelecimento da plataforma tecnológica para realização de testes pré-clínicos toxicológicos na Fiocruz.

3. REFERENCIAL TEÓRICO-CONCEITUAL

3.1. Inovação em Saúde

Existem inúmeras definições de inovação tecnológica, provenientes das mais diversas fontes. No entanto, é interessante ressaltar o que diz o Manual de Oslo (2005) sobre a inovação já que esse é o documento de referência à inovação no mundo: uma inovação tecnológica é definida pela introdução no mercado de um produto ou de um processo produtivo tecnologicamente novo ou substancialmente aprimorado.

O debate sobre o termo inovação é recente e, portanto, as políticas de inovação surgiram e continuam sendo propostas, articulando-se com as políticas de ciência e tecnologia e política industrial. Existe um crescente reconhecimento de que o conhecimento, sob todas as formas, desempenha um papel muito importante no progresso econômico e que a inovação está no centro dessa “economia baseada no conhecimento”, e ainda que a inovação é um fenômeno muito mais complexo e sistêmico do que se imaginava anteriormente. As abordagens sistêmicas à inovação deslocam o foco das políticas, dando ênfase à interação das instituições, observando processos interativos, tanto na criação do conhecimento, como em sua difusão e aplicação. Cunhou-se o termo “Sistema Nacional de Inovação” para este conjunto de instituições e fluxos de conhecimento. (Freeman, 1995)

As empresas dificilmente inovam isoladamente, elas interagem com outras organizações para ganhar, desenvolver e trocar diversos tipos de conhecimento, informação e outros recursos. Além disso, o comportamento das empresas também é marcado por instituições que oferecem incentivos ou restrições para a inovação, tais como regulações, normas culturais, regras sociais e padrões técnicos. (Freeman, 1995)

Ou seja, a inovação é parte de um sistema complexo que se desenvolve particularmente em uma determinada localidade, podendo-se dizer que os atores principais são as empresas. As universidades e os institutos de pesquisa públicos e privados são atores fundamentais nesse processo.

A área de saúde tem suas particularidades. No Sistema Nacional de Inovação em Saúde convivem setores com dinâmicas de inovação distintas entre si como a indústria farmacêutica, a indústria de produção de equipamentos médicos e a assistência (Albuquerque & Cassiolato, 2000).

Dentro desse sistema, as inovações em saúde resultaram em mudanças radicais na habilidade de se tratar uma doença e na melhoria da qualidade de vida (DiMasi, Hansen, Grabowski, 2003).

Apesar de a indústria farmacêutica experimentar diversas formas de inovação, em geral, a mais significativa é a descoberta e o desenvolvimento de novas substâncias químicas e bioprodutos que se tornam novas terapias. A descoberta e o desenvolvimento de um novo medicamento exigem que a empresa em questão interaja com a universidade e o governo. O custo dessa descoberta é importante sob diversos aspectos: em primeiro lugar, para analisar o retorno do investimento feito; em segundo lugar, tem uma ligação direta com a estrutura de inovação organizacional, influenciando em novas fusões e aquisições, bem como na consolidação da empresa; em terceiro

lugar, influencia no padrão de alocação de recursos internacionais; por fim, o custo de P&D tornou-se uma importante questão em seu próprio direito nas recentes deliberações políticas envolvendo assuntos regulatórios e a performance econômica da indústria farmacêutica. (DiMasi, Hansen, Grabowski, 2003)

E é esse sistema nacional de inovação voltado para a saúde que tem um grande potencial de alavancagem do desenvolvimento econômico e social de um país, já que alia as inovações à melhoria direta do bem-estar social, o que retroalimenta o movimento de crescimento e desenvolvimento econômico (Albuquerque & Cassiolato, 2000).

3.2. Caracterização do Processo de Desenvolvimento de um Novo Fármaco

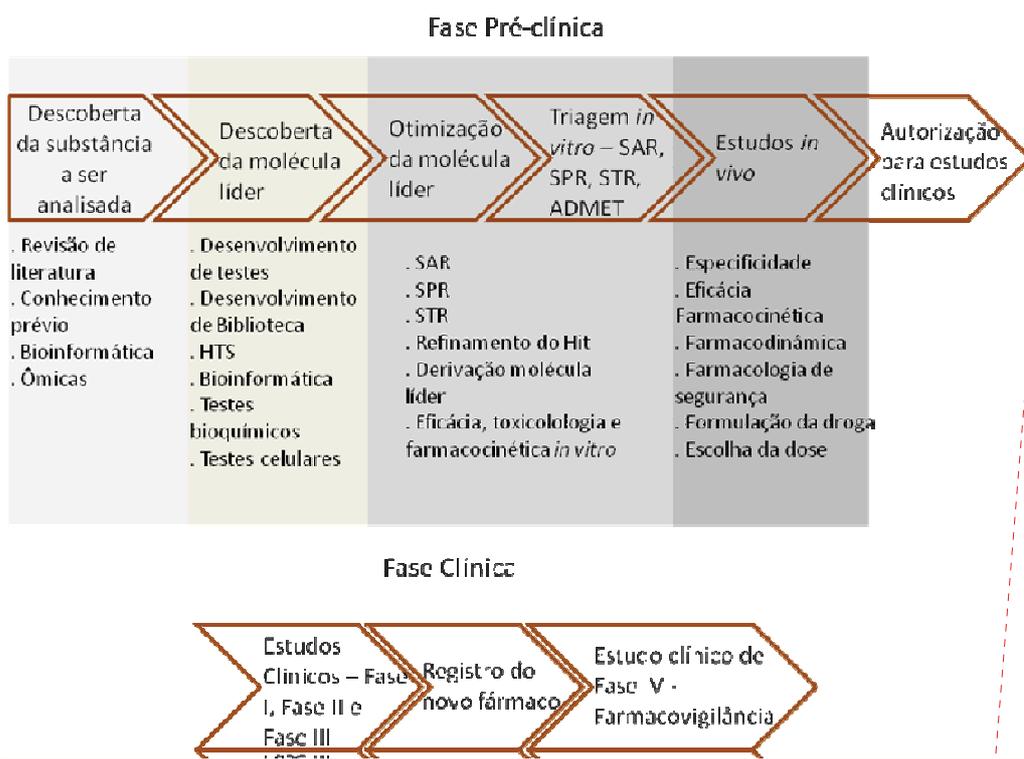
Na Figura 4 (Gad, 2008), pode-se observar as fases de desenvolvimento de um novo fármaco, que, grosso modo, podem ser divididas em três grandes etapas: descoberta, etapa pré-clínica e etapa clínica. Ainda de forma generalizada, as etapas de descoberta e pré-clínica podem se caracterizar pelas seguintes fases:

1. Descoberta/estudos *in vitro*:
 - 1.1 – Descoberta da série de substâncias ativas (hits);
 - 1.2 – Identificação da molécula líder;
 - 1.3 – Otimização da molécula líder;
 - 1.4 – Estudos *in vitro* de toxicidade;
 - 1.5 – Estudos *in vitro* de genotoxicidade;
 - 1.6 – Estudos *in vitro* de ADME
2. Etapa pré-clínica/estudos *in vivo*:
 - 2.1 – Eficácia;
 - 2.2 – Farmacocinética;
 - 2.3 – Toxicológicos;
 - 2.4 – Autorização para estudos clínicos.

A fase clínica tem as seguintes fases:

- estudo clínico de Fase I;
- estudo clínico de Fase II;
- estudo clínico de Fase III;
- registro de um novo fármaco;

- estudo clínico de Fase IV.



Formatado: Fonte: Times New Roman, 12 pt, Não verificar ortografia ou gramática

Figura 4: Visão geral do processo de desenvolvimento de um novo fármaco

Fonte: Gad, 2008.

A seguir, será detalhado o processo de desenvolvimento de um novo fármaco, tendo como roteiro a figura 4.

3.3. Descoberta da substância a ser analisada

Erhardt (2009) faz uma distinção entre três possibilidades de pontos de partida para se descobrir uma nova substância: química translacional, pesquisa translacional e a medicina translacional.

Na química translacional, a descoberta da substância dá-se por observação associada à estrutura química dessa substância. A substância pode ser obtida pela observação de um produto natural. Um exemplo disso é tubocurarina, que hoje é um

potente relaxante muscular utilizado para paralisar o diafragma durante cirurgias de peito aberto, e que foi descoberta a partir de um produto natural obtido por extração com água quente de uma planta oriunda da América do Sul que era utilizada por nativos durante a caça para paralisar suas presas (Erhardt, 2009).

Na pesquisa translacional, a descoberta se dá por observação no nível da biologia molecular ou farmacologia. Nesse caso, utiliza-se geralmente o método de ensaio biológico automatizado, rápido e preciso – o “*high throughput screening*” (HTS). Esse método serve para buscar rapidamente uma substância que possa ser utilizada para modular a atividade biológica de forma potencialmente terapêutica. Um exemplo é o propranolol, cuja origem pôde ser obtida pela observação farmacológica, já que a substância ativa o sistema beta-adrenérgico, o que aumenta os sintomas simpáticos e consumo de oxigênio no tecido cardíaco animal. A hipótese de que poderia ser possível proteger uma esquia do miocárdio e aliviar uma angina *pectoris* em humanos administrando um agente bloqueador dos receptores beta-adrenérgicos levou à busca por compostos destinados a realizar esse tipo de modulação e à descoberta do propranolol (Erhardt, 2009).

Na medicina translacional, a observação relativa à biologia provém da clínica. Um exemplo é o esmolol, cuja descoberta foi inspirada pela observação clínica do propranolol, cuja meia vida longa não era mais desejável quando administrada por via intravenosa para modular sintomas adrenérgicos durante situações críticas. A busca por compostos que mantenham a atividade de bloqueio de receptores beta-adrenérgicos e que tenham uma meia-vida ultra curta quando utilizados em salas de emergência por via IV, levaram à descoberta do esmolol (Erhardt, 2009).

Nessa fase ainda estão sendo verificadas possíveis substâncias – em nível teórico e computacional – que têm provável potencial para que o estudo com essa substância possa ser iniciado.

3.3.1. Descoberta da molécula líder

Nessa fase, são realizados testes bioquímicos e celulares com as substâncias selecionadas na fase anterior. Esses testes vão compor bibliotecas computacionais para que seja realizado o “*High Throughput Screening*” (HTS).

Na química medicinal, grandes bibliotecas de milhões de compostos são analisadas por meio de métodos HTS. Grandes números de compostos selecionados de uma biblioteca são triados a partir de seu alvo biológico, por exemplo, uma proteína que tem um papel fundamental em uma doença em particular. Hoje em dia é possível agregar blocos químicos em todas as combinações, gerando grandes bibliotecas virtuais de compostos relacionados estruturalmente a partir de procedimentos automatizados. Os métodos de HTS realizam a triagem desses bancos com uma entrada definida, usualmente farmacofórica, testando de centenas a milhares de compostos, buscando informações relevantes (Koh et al, 2003).

Depois disso, técnicas de tratamento de dados identificam novos padrões nos dados, potencialmente úteis para analisar os conjuntos de dados. Abordagens combinatórias buscam maximizar a diversidade estrutural da biblioteca final, isto é, o grau de heterogeneidade, que é faixa estrutural ou dissimilaridade, de forma a assegurar a maior cobertura química na busca de moléculas bioativas. Essas ferramentas computacionais melhoram a diversidade molecular e a chance de se encontrar moléculas líderes (Saliner, Patlewicz & Worth, 2005).

Identificada a molécula líder, passa-se à fase seguinte, onde só se irá trabalhar com essa molécula.

3.3.2. Otimização da molécula líder / Estudos *in vitro*

Nesse momento, a molécula líder é trabalhada em sua estrutura e testada exaustivamente, de forma a verificar sua eficácia, toxicidade e farmacocinética. Esses testes são realizados *in vitro*, já que a substância ainda não é bem conhecida.

Podem ser ainda substituídos grupamentos químicos que tornam a substância tóxica, enfim, são feitos ajustes químicos estruturais nessa substância.

Tradicionalmente, as atividades de síntese química focavam na exploração do espaço químico farmacofórico e em testes biológicos para medir a atividade e a seletividade. A relação existente entre estrutura química e atividade farmacológica compõe a estratégia de “*Structure-Activity relationship*” (SAR) ou relação entre estrutura e atividade. Esse enfoque não leva em consideração a farmacocinética e a toxicologia (Kerns & Di, 2003).

Tanto as técnicas de modelagem molecular quanto os métodos estatísticos quantitativos podem ser úteis na elucidação da informação estrutural de compostos ativos. Uma vez que o efeito biológico raramente depende de apenas uma ou duas propriedades químicas, abordagens multidimensionais são necessárias para levar em conta um grande número de fatores. Para lidar com conjuntos de dados complexos que consistem em mais de uma atividade biológica e muitos descritores, foram desenvolvidas ferramentas computacionais e estatísticas avançadas. Essas técnicas permitem uma rápida recuperação e predição das propriedades moleculares e biológica por meios de métodos multivariados e técnicas de inteligência artificial (Easter et al, 2009).

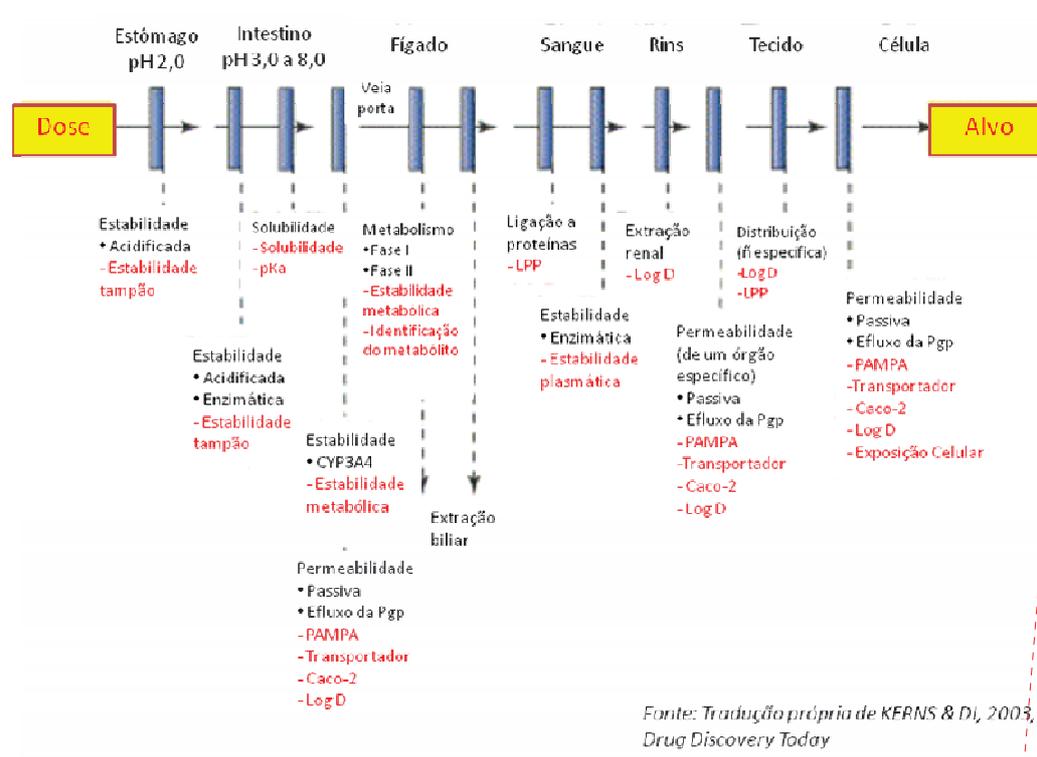


Figura 5: Esquema Demonstrativo das Barreiras Encontradas pelas Substâncias no Caminho entre a sua Administração e a Chegada ao Alvo Terapêutico.

É necessário ainda apontar a toxicologia computacional que está sendo utilizada para prever toxicidade, de forma a diminuir a taxa de eliminação dos compostos no desenvolvimento e descoberta de novos fármacos. É importante otimizar moléculas durante o desenvolvimento não só por eficácia, mas também em paralelo para verificar suas propriedades farmacocinéticas e toxicológicas. É o bom equilíbrio entre potência alvo, seletividade, ADME (absorção, distribuição, metabolismo, excreção) favoráveis,

propriedades de segurança clínica e pré-clínica que irão levar à seleção e ao desenvolvimento clínico de uma potencial nova substância (Muster, 2008).

3.3.3. Estudos *in vivo*

Nessa fase os estudos passam a ser mais caros, já que utilizam roedores (camundongos, hamsteres etc) e não-roedores (coelho, mini porcos, beagles etc). O custo de aquisição de um desses animais não é tão alto quanto o que se gasta para mantê-lo ou ainda para produzi-lo. Para reduzir ainda mais o custo dessa descoberta, os primeiros testes são realizados com organismos mais simples como o *zebrafish* (*Brachydanio rerio*) e com organismos invertebrados como nematódeos (*Caenorhabditis elegans*) e a drosófila (*Drosophila melanogaster*), para depois passar para os organismos mais complexos.

Comprovadas a não-toxicidade do composto, a farmacologia e a farmacocinética favoráveis, o composto passa a ser estudado em organismos mais complexos, devendo os estudos ser realizados com roedores e não roedores. Esses estudos são necessários para que os órgãos competentes possam autorizar o início dos estudos clínicos que ocorrerão em humanos.

3.3.4. Formulação do medicamento

A formulação do medicamento, ou seja, a mistura do princípio ativo a outros ingredientes químicos, é muitas vezes um grande obstáculo no desenvolvimento de um medicamento. Deve-se ter clareza da via de administração prevista, bem como de características da substância como fórmula estrutural, fórmula molecular, peso molecular, sinonímia e referência completa, ponto de fusão, solubilidade, propriedades organolépticas, estudos de estabilidade do fármaco, pKa, meia-vida biológica, volume de distribuição, absorção, distribuição, biotransformação, eliminação, dentre outras (Anvisa, RDC N° 136, 2003).

Na maioria dos casos, a formulação de substância não é totalmente finalizada antes da apresentação da substância para registro e antes dos estudos clínicos de fase I.

Portanto, é comum apresentar um medicamento para registro com uma fórmula simples, sendo essa fórmula utilizada também para estudos de Fase I. A dose unitária é geralmente estabelecida após a fase 2 e antes da fase 3 dos testes clínicos. A formulação é, então, selecionada para a fase final dos ensaios clínicos e liberação do produto. Todas as formulações para uso humano são preparadas sob rigorosas especificações, conforme descrito nas diretrizes das Boas Práticas Farmacêuticas (BPF) (Steinmetz & Spack, 2009).

A produção de lotes-piloto é essencial para uma avaliação mais criteriosa quanto às características e a qualidade de um produto. Com esta produção é possível realizar dentre outras, a avaliação em testes, das características fundamentais de um produto antes de permitir sua liberação ao consumo, além de possibilitar a execução dos ensaios biofarmacocinéticos, quando necessários. Desta forma, a produção destes lotes deverá buscar reproduzir ao máximo as condições técnicas, operacionais e de processos de fabricação do lote industrial proposto ao produto a ser avaliado para posterior liberação de seu registro junto a ANVISA. (Anvisa, IN 06, 2007)

3.3.5. Ensaios clínicos

Os ensaios clínicos são divididos em estudos de Fase I, Fase II, Fase III e Fase IV, fases que serão detalhadas a seguir, baseando-se nas definições de Medronho, 2003.

Fase I – tem como principal objetivo determinar uma dose aceitável da substância em estudo. São ensaios de farmacologia clínica e toxicidade, em princípio, mais relacionados à segurança do que à eficácia. Nessa fase, o fármaco é administrado pela primeira vez em um pequeno número de voluntários sadios e de pacientes, podendo requerer entre 20-80 indivíduos e pacientes.

Fase II – são estudos-piloto de eficácia. A substância é administrada em um número reduzido de indivíduos doentes, já se podendo ter ideia dos possíveis efeitos colaterais. Raramente utilizam-se mais do que 100-200 pacientes por substância.

Fase III – é uma avaliação em larga escala do tratamento. Após a substância ter sido demonstrada como razoavelmente eficaz, ela deve ser comparada em larga escala com tratamento(s) padrão existentes. São realizados com um grande número de pacientes, confirmando a eficácia e a segurança, caracterizando os efeitos colaterais e tóxicos. Passada essa Fase, o medicamento é registrado e comercializado.

Fase IV – é o processo de pesquisa pós-comercialização. Nessa etapa, existem questões a ser consideradas em relação ao monitoramento de efeitos adversos e estudos adicionais, em larga escala, em longo prazo, de morbidade e mortalidade.

O processo de desenvolvimento de um fármaco é um processo contínuo, que, em relação ao seu conteúdo e ordem cronológica, é gerado com base no conhecimento científico sempre crescente nas áreas relevantes para o medicamento em desenvolvimento. É fundamental a interação entre os profissionais que trabalham no desenvolvimento de produtos. Eles podem ser químicos, biólogos, bioquímicos, veterinários e médicos que trabalham nos diferentes campos de pré-clínicos e clínicos. Esses campos cobrem todas as áreas, desde síntese química até as diversas fases da investigação clínica, bem como o trabalho de orientação ao paciente pelo profissional de saúde. Para que essa engrenagem funcione, faz-se necessária troca de informações intensa durante todo o processo de desenvolvimento. (Olejniczak, Günzel & Bass, 2001)

A Figura 6 dá uma visão geral das áreas mais importantes da investigação que fazem parte do ciclo de acumulação de conhecimento, bem como de sua integração. (Olejniczak, Günzel & Bass, 2001) demonstra que o desenvolvimento e aplicação de estratégias de testes pré-clínicos são processos complexos e dinâmicos.

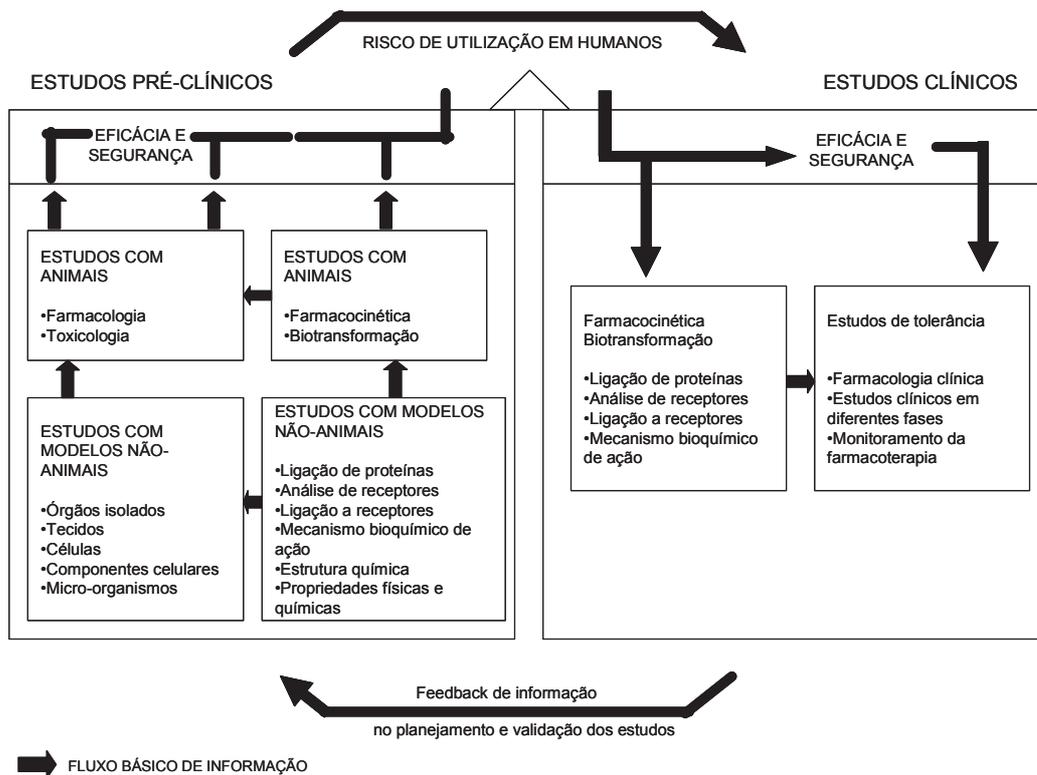


Figura 6 – Interação dos campos mais importantes da biologia na pesquisa dos estudos pré-clínicos e clínicos de segurança e eficácia.

Foi apresentado um modelo linear na figura 05, onde a hierarquia seria *in silico*, *in vitro* (células, tecidos ou órgãos), *ex-vivo*, *in vivo* (organismos simples), *in vivo* (organismos complexos). No entanto, nem sempre esse processo se apresenta dessa forma, já que cada célula, cada organismo apresenta suas particularidades e o processo pode ter que recomeçar a cada passo que avança.

Um exemplo disso é dado por Fura (2006), que alerta que algumas substâncias podem ser descobertas a partir de metabólitos farmacologicamente ativos de outras substâncias e podem contribuir significativamente para a terapêutica e efeitos adversos de substâncias. As reações de biotransformação podem ser acompanhadas de diversos eventos, como a formação de metabólitos quimicamente estáveis, que são destituídos de atividades farmacológicas ou toxicológicas, ou ainda a geração de metabólitos de vida curta e quimicamente ativos, que podem levar à ativação toxicológica. Essas reações podem também resultar na formação de metabólitos estáveis quimicamente com atividade farmacológica.

No quadro 2, pode-se verificar alguns exemplos de substâncias que formam ativos metabólicos e seu modo de biotransformação:

Quadro 2: Exemplos de substâncias que geram metabólitos ativos e substâncias cujos metabólitos são utilizados como fármacos

Substância	Metabólito	Modo de biotransformação	Uso clínico
Fluoxetina	Norfluoxetina	n-demetilação	Antidepressivo
Hidroxizina	cetirizina	carboxilação	Antialérgico
Imipramina	desmipramina	n-demetilação	Antidepressivo
β -metildigoxina	digoxina	0-demetilação	Tratamento de insuficiência cardíaca
Prednisona	prednisolona	desidrogenação	Corticóide, utilizado no tratamento da asma
Sinvastatina	6- β -hidroximetil-sinvastatina	Hidroxilação alifática	antilipêmico

3.4. Requisitos para a realização de ensaios pré-clínicos com vistas ao desenvolvimento de um produto

3.4.1. Estudos Pré-clínicos Exigidos para Aprovação nos Órgãos de Vigilância Sanitária

Nesta seção, serão detalhadas as legislações do Brasil e da Europa, Estados Unidos e Japão. No Brasil, foi publicado em março/2010 o “Guia para a Condução de Estudos Não-clínicos de Segurança Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos”, elaborado pela Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia – GESEF, unidade da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Esse documento é uma orientação para a condução dos estudos não-clínicos de segurança durante o desenvolvimento de medicamentos, e foi embasado em documentos de agências reconhecidas pela vigilância sanitária de medicamentos dos Estados Unidos (Food and Drug Administration (FDA) e Europa (European Medicines Agency (EMA)), e de instituições de interesse na área (International Conference on Harmonization (ICH), Organization for Economic Co-operation and Development (OECD), National Cancer Institute (NCI), World Health Organization (WHO)), visando a uma maior compatibilidade com a regulamentação internacional. Segundo o documento, sua publicação tem)) a intenção de racionalizar estudos não-clínicos, evitando duplicidades e utilização desnecessária de animais sem que isso possa comprometer a obtenção e a confiabilidade de informações referentes à segurança da substância a ser testada. Os seguintes tópicos compõem o Guia (ANVISA, 2010), e o anexo I apresenta um resumo dos tipos de estudos identificados como obrigatórios pelo guia.

- ✓ Estudos de Toxicidade de Dose Única (Aguda);
- ✓ Estudos de Toxicidade de Doses Repetidas;

- ✓ Estudos de Toxicidade Reprodutiva (estudos de fertilidade e desenvolvimento embrionário inicial, de desenvolvimento pré e pós-natal, incluindo função materna, de desenvolvimento embrio-fetal);
- ✓ Estudos de Genotoxicidade;
- ✓ Estudos de Tolerância Local;
- ✓ Estudos de Carcinogenicidade;
- ✓ Estudos de Interesse para Avaliação de Segurança Farmacológica;

Estados Unidos, Japão e Europa utilizam a documentação da Conferência Internacional de Harmonização dos Requisitos Técnicos para Registro de Medicamentos para Uso em Humanos (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use – ICH), que consiste em um único projeto que reúne as autoridades regulatórias e os expertises da indústria farmacêutica desses países para discutir aspectos técnicos e científicos do registro de produtos.

O propósito dessa Conferência é fazer recomendações de forma a atingir a maior harmonização na interpretação e na aplicação dos guias técnicos e requerimentos do registro de produtos de forma a reduzir e prevenir a necessidade de duplicação de testes realizados durante a pesquisa e o desenvolvimento de novos medicamentos. Isso torna o uso de recursos humanos, animais e materiais mais econômicos, bem como elimina o atraso desnecessário no desenvolvimento global e na disponibilidade de novos medicamentos. Tudo isso é feito mantendo níveis seguros de qualidade, segurança e eficácia (ICH, 2010).

Abaixo, estão listadas as diretrizes do ICH, que estão melhor descritas no Anexo II. A tabela do Anexo II foi construída a partir dos documentos do ICH, e mostra todas as diretrizes da conferência no que concernem os ensaios pré-clínicos. Deve ser ressaltado que o ICH possui quatro grupos de diretrizes: de eficácia, de qualidade, de segurança e multidisciplinares.

Diretrizes relacionadas à Eficácia do Novo Fármaco

- ✓ Informações sobre resposta de dose para embasamento do registro de substâncias (ICH, Guideline E4, 1994);
- ✓ Definição de biomarcadores para genômica, farmacogenômica, farmacogenética, dados para genômica e categorias de codificação de amostragem (ICH, Guideline

E15, 2007);

- ✓ Biomarcadores Genômicos relacionados à resposta de substâncias: contexto, estrutura e formato dos requerimentos de qualificação (ICH, Guideline E16, 2010).

Diretrizes relacionadas à Segurança do Novo Fármaco

- ✓ Necessidade de estudos de carcinogenicidade de medicamentos (ICH, Guideline S1A, 1995);
- ✓ Testes de carcinogenicidade de medicamentos (ICH, Guideline S1B, 1997);
- ✓ Estabelecimento de dose para estudos carcinogênicos em medicamentos (ICH, Guideline S1C (R2), 2008);
- ✓ Diretriz para teste de genotoxicidade e interpretação de dados para medicamentos que se pretende utilizar em humanos (ICH, Guideline S2 (R1), 2008);
- ✓ Nota para diretriz de toxicocinética: a avaliação da exposição sistemática em estudos de toxicidade (ICH, Guideline S3A, 1994);
- ✓ Farmacocinética: diretriz para estudos de dose repetida em distribuição nos tecidos (ICH, Guideline S3B, 1994);
- ✓ Duração dos testes de toxicidade crônica em animais (testes de toxicidade em roedores e em não-roedores) (ICH, Guideline S4, 1998);
- ✓ Detecção de toxicidade para reprodução para produtos medicinais e toxicidade para fertilidade masculina (ICH, Guideline S5 (R2), 2005);
- ✓ Avaliação de segurança pré-clínica de medicamentos derivados de biotecnologia (ICH, Guideline S6 (R1), 1997);
- ✓ Avaliação não-clínica do potencial para repolarização ventricular retardada de medicamentos para humanos (ICH, Guideline S7B, 2005);
- ✓ Avaliação não-clínica de medicamentos oncológicos (ICH, Guideline S9, 2009).

Diretrizes relacionadas à Qualidade do Novo Fármaco

- ✓ Teste de estabilidade de novas substâncias e produtos (ICH, Guideline Q1A (R2), 2003);
- ✓ Teste de estabilidade: teste de fotoestabilidade de novas substâncias e produtos (ICH, Guideline Q1B, 1996);
- ✓ Teste de estabilidade de novas formulações (ICH, Guideline Q1C, 1996);
- ✓ Agrupamento e organização de desenhos para teste de estabilidade de novas

- substâncias e produtos (ICH, Guideline Q1D, 2002);
- ✓ Impurezas em novas substâncias (ICH, Guideline Q3A (R2), 2006);
 - ✓ Impurezas em novos produtos (ICH, Guideline Q3B (R2), 2006);
 - ✓ Impurezas: guia de solventes residuais (ICH, Guideline Q3C (R5), 2011);
 - ✓ Avaliação de segurança viral de produtos biotecnológicos derivados de células de origem humana ou animal (ICH, Guideline Q5A (R1), 1999);
 - ✓ Qualidade de produtos biotecnológicos: análise da construção da expressão em células utilizadas para produção de r-DNA derivados de produtos de proteínas (ICH, Guideline Q5B, 1995);
 - ✓ Qualidade de produtos biotecnológicos: teste de estabilidade de produtos biotecnológicos/biológicos (ICH, Guideline Q5C, 1995);
 - ✓ Derivação e caracterização de substratos de células utilizados para produção de produtos biotecnológicos/biológicos (ICH, Guideline Q5D, 1997);
 - ✓ Comparabilidade de produtos biotecnológicos / biológicos sujeitos a mudanças em seus processos de manufatura (ICH, Guideline Q5E, 2004);
 - ✓ Especificações: procedimentos de testes e critério de aceitação de novas substâncias e novos produtos: substâncias químicas (ICH, Guideline Q6A, 1999);
 - ✓ Especificações: procedimentos de testes e critério de aceitação para produtos biotecnológicos / biológicos (ICH, Guideline Q6B, 1999);
 - ✓ Desenvolvimento farmacêutico (ICH, Guideline Q8 (R2), 2009).

Diretrizes relacionadas à Multidisciplinaridade do Novo Fármaco

- ✓ Guia para estudos de segurança não-clínicos para condução de ensaios clínicos e autorização para comercialização de produtos farmacêuticos (ICH, Guideline M3 (R2), 2009);

Neste ponto, faz-se necessária uma comparação entre o Guia brasileiro e o as normas do ICH. O primeiro informa os testes obrigatórios em um ensaio pré-clínico e abrange apenas estudos de segurança (toxicidade, genotoxicidade e carcinogenicidade). Já o ICH possui quatro grupos de diretrizes: de eficácia, de qualidade, de segurança e multidisciplinares. Ou seja, o ICH apresenta diretrizes que abrangem além dos estudos de segurança já listados acima, informações sobre estudos de eficácia (farmacológicos e farmacocinéticos) e qualidade (questões relacionadas à formulação do produto).

As diretrizes do ICH são bem mais abrangentes do que as da ANVISA, além de serem apresentadas com mais clareza e detalhamento. A maior abrangência deve-se

não só ao fato de englobar mais conceitos presentes em um ensaio pré-clínico, como também de apresentar uma maior especificidade relacionada a cada um desses conceitos. Ou seja, pode-se dizer que o Guia brasileiro está contido nas diretrizes do ICH, no que se refere a ensaios pré-clínicos.

Os testes toxicológicos estão contidos na seção dos Guias de Segurança do ICH e o guia da Anvisa é um resumo desses guias. O autor Kerns & Di (2008) propõe os estudos toxicológicos que são sempre necessários antes que uma substância passe à fase clínica. Os testes abaixo relacionados estão tanto no guia da Anvisa quanto nos guias do ICH.:

in vitro – teste de genotoxicidade – teste de mutação reversa em bactérias;

in vitro – teste de genotoxicidade – aberração cromossômica – teste de micronúcleo;

in vivo – teste de genotoxicidade – aberração cromossômica realizado com células de medula óssea de camundongos;

in vivo – farmacocinética (bioquímica toxicológica);

in vivo – toxicidade aguda;

in vivo – toxicidade de dose repetida.

Testes complementares – testes farmacológicos para acompanhamento das funções vitais dos animais sob estudo;
– patologia dos animais mortos e/ou sacrificados no estudo;
– histologia completa dos animais participantes do estudo.

Com esses testes, define-se o escopo da plataforma tecnológica para realização de ensaios pré-clínicos toxicológicos a ser proposta mais adiante.

3.4.2. Boas Práticas de Laboratório (BPL)

Diferentemente da pesquisa puramente acadêmica, quando se pretende desenvolver um produto e colocá-lo no mercado, será necessário seguir normas específicas. A seguir, serão descritas a legislação vigente nos Estados Unidos e no

Brasil para realização dos ensaios pré-clínicos, assim como as normas para que se possa realizar um ensaio pré-clínico certificado.

Em padrões internacionais, as regulações para autorização de comercialização de um produto farmacêutico devem seguir padrões de qualidade pré-definidos, isto é, seguir as Boas Práticas de Laboratório (BPL). Essas boas práticas devem ser rigorosamente seguidas durante os estágios de desenvolvimento e ciclo de vida de um produto farmacêutico. A Organização Mundial de Saúde (OMS) instituiu um grupo de trabalho (Scientific Group on GLP issues – SWG) em 1999 e 2000 para direcionar a posição da instituição nas BPL (OMS, 2009).

As deliberações desse grupo de trabalho nas questões de BPL para os países em desenvolvimento foram as seguintes:

- nos países em desenvolvimento, a demonstração do cumprimento das BPL é pré-requisito para realização de testes de segurança não-clínica e para registro de substâncias em outros países que não o de origem da pesquisa;

- é essencial evitar a co-existência de dois ou mais padrões de regulamentação de BPL internacionais para testes de segurança não-clínica;

- um guia é necessário para a implementação das BPL.

O grupo de trabalho SWG recomenda, então, que a OMS adote os princípios revisados da OCDE para Boas Práticas de Laboratório como o guia oficial para realização de testes não-clínicos.

No entanto, a Anvisa não adota as diretrizes de nenhum organismo internacional para que um laboratório de ensaios pré-clínicos toxicológicos seja certificado e acreditado. Sendo assim, no Brasil, ainda que sejam seguidos os padrões internacionais, não se pode ter um laboratório acreditado e reconhecido pela Anvisa.

Os ensaios pré-clínicos devem ser realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratório (BPL), que é um sistema de qualidade adequado ao processo organizacional e condições sob as quais os estudos não-clínicos de saúde e de ambiente são planejados, realizados, monitorados, registrados, arquivados e relatados (OMS, 2009).

No Brasil, o órgão de acreditação é a Coordenação Geral de Acreditação/ Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Cgcre/Inmetro). De acordo com a NBR 17.025, acreditação é o reconhecimento formal por um organismo de acreditação de que um laboratório ou um organismo de certificação ou inspeção atende a requisitos previamente definidos e demonstra ser competente para realizar suas atividades com confiança.

O Cgcre/Inmetro se baseia nas diretrizes traçadas pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE).

A Cgcre/Inmetro encontra-se em fase de adesão plena ao sistema de aceitação mútua de dados (MAD) da OCDE para os produtos “agrotóxicos, seus componentes e afins” e “químicos industriais”, ou seja, somente testes realizados em instalações de teste brasileiras com esses produtos poderão ser aceitos pelos países membros da OCDE. As demais substâncias como produtos farmacêuticos, cosméticos, aditivos de alimentos e de rações, produtos veterinários, domissanitários, organismos geneticamente modificados, entre outras, testadas em instalações de testes reconhecidas pela Cgcre/Inmetro em conformidade aos Princípios das BPL não estarão, neste primeiro momento, cobertos pelo Sistema “MAD”.

O reconhecimento da conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório da OCDE é concedido por área de especialidade dos estudos conduzidos pela instalação de teste No Anexo III foram listados os testes relacionados às áreas de especialidade de estudo que se referem a ensaios pré-clínicos.

No anexo IV, estão listadas as normas do INMETRO que se referem a ensaios pré-clínicos e os testes passíveis de acreditação pelo INMETRO,

Os princípios das BPL da OCDE seguidos pelo INMETRO reúnem conceitos gerenciais que abrangem a organização dos locais onde são realizados os testes e as condições sob as quais os estudos de segurança pré-clínicos são executados. Seus propósitos são de assegurar a geração de alta qualidade e dados de testes confiáveis (*in vitro* e *in vivo*) relacionados à segurança dos químicos e preparações sob a estrutura da “Aceitação Mútua de Dados” (Mutual Acceptance of Data – MAD).

A MAD também harmoniza os procedimentos da submissão às Boas Práticas de Laboratório, monitorando, assegurando que os estudos de segurança pré-clínicos sejam conduzidos de acordo com os princípios das Boas Práticas de Laboratórios e que os países podem ter confiança na qualidade e no rigor dos testes de segurança.

É necessário deixar claro que o INMETRO, apesar de listar testes toxicológicos para produtos farmacêuticos, a ANVISA, que é o órgão regulador desses produtos não se definiu quanto às regras que devem ser utilizadas para realização de ensaios pré-clínicos para que esses possam ser acreditados no Brasil.

De acordo com o guia da Organização Mundial de Saúde (OMS) que regula as BPL, a introdução das BPL em países em desenvolvimento podem ser impedidas por limitação de recursos, ou seja, de pessoal treinado, infraestrutura adequada e equipamentos; ou ainda pela instabilidade de instalações, isto é, suprimento de água e

eletricidade. Com isso, existe uma redução do investimento, já que os resultados não são confiáveis e não servem de base para o progresso dos estágios clínicos e para eventuais registros do produto.

No que compreende o desenvolvimento farmacêutico, os princípios das BPL, em seu senso regulatório, aplicam-se apenas aos estudos que sejam não-clínicos, isto é, a maioria dos estudos em animais ou *in vitro*, incluindo aspectos analíticos desses estudos; que sejam desenhados para obtenção de dados sobre propriedades e/ou segurança dos itens no que diz respeito à saúde humana/meio-ambiente; que tenham a intenção de ser submetidos à autoridade de registro nacional com o propósito de registro e licenciamento da substância teste ou de qualquer produto derivado dela.

Dependendo da situação legal nacional, os requerimentos das BPL para estudos laboratoriais não-clínicos conduzidos para avaliação de segurança da Substância cobrem as seguintes classes de estudos:

- toxicidade de dose única;
- toxicidade de dose repetida;
- toxicidade reprodutiva (fertilidade, toxicidade embriofetal e teratogênese, toxicidade peri e pós-natal);
- potencial mutagênico;
- potencial carcinogênico;
- toxicocinética (estudos farmacocinéticos, que fornecem dados de exposição sistêmica para os estudos acima);
- estudos farmacodinâmicos desenhados para testar o potencial para eventos adversos (farmacologia de segurança);
- estudos de tolerância local, incluindo fototoxicidade, estudos de irritação e sensibilidade ou teste de um aditivo suspeito e inibição dos efeitos de uma substância.

Sendo assim, as classes de estudos de toxicidade propostos na plataforma estão compreendidas nas regulamentações das BPL, emitidas pela OCDE.

Para poder verificar os itens necessários à construção de um laboratório de ensaios pré-clínicos toxicológicos, faz-se necessária uma descrição dos itens constantes nas BPL, de forma que o laboratório possa ser instalado de acordo com os princípios das BPL.

De acordo com as BPL, os itens que devem ser considerados na organização de um laboratório são os seguintes:

1. Organização e Pessoal da Instalação de Teste;

- (a Instalação de Teste é um conjunto de pessoas, local, instalações e equipamentos necessários para conduzir o estudo de saúde não-clínico e de segurança do meio ambiente)
2. Programa de Garantia da Qualidade;
(significa um sistema definido com pessoal designado e independente da condução do estudo e que se destina a garantir a gestão da instalação de teste em conformidade com as BPL)
 3. Instalações de Teste;
 4. Equipamentos, Materiais e Reagentes;
 5. Sistema-teste / Amostras de Sistema-teste;
(Sistema-teste é qualquer sistema biológico, químico ou físico ou uma combinação destes, usados no estudo)
 6. Substância-teste e Substância de Referência;
(Substância-teste é o objeto sob investigação em um estudo e Substância de Referência é qualquer item usado para prover uma base de comparação com a substância teste)
 7. Procedimentos Operacionais Padrão;
 8. Execução do Estudo;
 9. Relatório do Estudo;
 10. Armazenamento e Arquivo de Registros e de Material.

3.4.3. Recursos / custos envolvidos

Para que um ensaio pré-clínico seja realizado em toda sua complexidade, é necessária uma diversidade de pesquisas. Para tanto, precisa-se de um alto investimento em instalações, equipamentos e pessoal especializado. Como os estudos toxicológicos são o componente principal do desenvolvimento pré-clínico (em média 50% dos custos totais) (Kreger e Feldman, 2004), são escassos no mercado doutores em toxicologia e em patologia. No Brasil, além da especialização dos recursos humanos envolvidos, um outro componente que é igualmente escasso, são os animais de laboratório: existe pouca oferta e os animais não são de qualidade (Quental, 2010).

Como o desenvolvimento pré-clínico é um processo caro e altamente especializado, a realização destes em grande escala é necessária para que o custo desse

desenvolvimento seja viável. Os estudos devem ser conduzidos segundo as Boas Práticas de Laboratório (BPL), cujos itens principais foram listados no item anterior; devem levar em consideração a legislação e protocolo de agências reconhecidas internacionalmente; os animais utilizados devem ser padrão Specific Pathogen Free (SPF), ou seja, livre de patógenos específicos (Pieroni et al., 2009).

São esses elevados custos de construção e manutenção da infraestrutura de P&D que levam as grandes e pequenas indústrias farmacêuticas a terceirizarem os serviços. Isso permite não só que o custo seja reduzido, mas também que haja uma redução de 30% no tempo total gasto com o ensaio (Pieroni et al., 2009). As empresas especializadas que oferecem estudos pré-clínicos são as “*contract research organizations*” (CRO).

Os custos de um estudo pré-clínico dependem do desenho desse estudo, das espécies selecionadas e da CRO escolhida. O Anexo V mostra os custos de alguns testes de dose única, toxicologia de dose repetida, toxicologia genética e toxicologia reprodutiva. Deve-se ressaltar que esses custos não incluem custos de publicação de artigos, desenvolvimento e validação de método analítico, modelagem e avaliação toxicocinética de amostras, avaliação especial de histopatologia e/ou coleta de tecido ou patologia clínica especial (Parexel's, 2007/2008).

O planejamento para uma estrutura dessas é muito complexo e precisa ser muito bem detalhado, geralmente envolvendo a contratação de uma equipe de consultores especializados para que possa ser instalada. É importante deixar claro que esse trabalho fornece uma visão geral do planejamento, e que, para ser aplicado, deve passar por um nível de refinamento bem maior e complexo.

O escopo deste trabalho envolve as competências necessárias para a realização de ensaios pré-clínicos. Cabe aqui definir o termo competência, que é uma combinação de vários tipos de conhecimento e a infraestrutura que permite a aplicação desses conhecimentos. (Quental, 2006 apud Hasegawa e Furtado, 2004). Na literatura, não foram identificadas as competências para realização de ensaios pré-clínicos. No entanto, Quental (2006) cita as competências para realização de ensaios clínicos, que podem ser divididas em três atividades: desenho do estudo e análise dos resultados, gestão dos processos e execução dos testes. Extrapolando essa ideia, considerou-se que as competências para realização de ensaios pré-clínicos podem ser divididas em quatro atividades principais: o desenho do estudo e a análise dos resultados, a gestão dos processos, a execução dos testes propriamente ditas e o controle.

Pode-se, então, dizer que o desenho do estudo e a análise dos resultados são atividades que devem ser desempenhadas pelo Diretor do Estudo. A gestão dos processos deve ser realizada pelo Gerente da Instalação e a execução dos testes/tarefas é função dos profissionais especializados (de nível superior ou técnico). O controle fica a cargo da Garantia da Qualidade. Antes de definir as competências necessárias para o desempenho de cada uma dessas funções, é necessário detalhar as BPL e os testes previstos na plataforma, para que se possa ter uma noção do nível de detalhamento necessário para o funcionamento de um laboratório deste tipo.

Considerando que competência é um conjunto de conhecimentos e a infraestrutura necessária para por em prática esses conhecimentos, propõe-se o descrito no Quadro 3, que define os responsáveis e as competências necessárias para cada atividade proposta anteriormente.

Quadro 3: Conjunto de Conhecimentos do Pessoal Responsável pelo Funcionamento de uma Instalação Teste

Atividade	Responsável	Conjunto de Conhecimentos
Desenho do Protocolo e Análise de Resultados	Diretor do Estudo	Conhecimentos científicos sobre os testes executados, BPL, planejamento
Gestão de Processos	Gerente da Instalação	Conhecimentos de gestão, tanto em relação aos processos de trabalho quanto em relação à organização dos fluxos de trabalho, BPL
Execução dos Testes	Profissionais especializados (podendo ser de nível superior ou técnico)	Conhecimentos técnicos em relação às técnicas e aos procedimentos, BPL
Controle	Garantia da Qualidade	Conhecimentos em auditoria em relação ao cumprimento das BPL

No caso da estrutura de plataforma proposta neste trabalho, é inviável o detalhamento dos custos de instalação, já que não se tem o desenho do estudo a ser realizado e nem a quantidade de testes a ser realizados mensalmente.

4. METODOLOGIA

Os passos da metodologia adotada estão relacionados a cada item dos objetivos específicos listados na seção 2.1.

4.1. Identificar e detalhar os testes pré-clínicos necessários para que uma substância passe para a fase clínica

Foi feita uma pesquisa na legislação vigente brasileira (ANVISA) e internacional (ICH, OCDE), bem como em livros especializados em testes pré-clínicos. Os produtos a serem estudados são muito diferentes entre si, ou seja, pertencem às mais diversas classes farmacêuticas. Sendo assim, seria muito abrangente realizar todos os testes pré-clínicos necessários a todos as classes de medicamentos. O livro de Kerns & Di (2009) foi o escolhido para definição dos testes pois foi o livro encontrado que melhor definiu os testes pré-clínicos que são sempre necessários para que qualquer medicamento possa passar à fase clínica. Além disso, todos os testes propostos no livro estão contidos na legislação vigente.

4.2. Estruturar, em nível teórico, a plataforma tecnológica para realização de ensaios toxicológicos pré-clínicos

Entende-se por plataforma uma forma de realizar pesquisa colaborativa e uso em larga escala de equipamentos de grande porte e multiusuários. As plataformas são bastante utilizadas para que seja mais fácil a organização dos processos de aquisição,

manutenção e coordenação desses equipamentos. (Teixeira, Machado & Filipecki, 2010)

Foram utilizadas as normas da OCDE. Como essas normas detalham a metodologia utilizada para realização de cada teste, estas foram lidas de forma minuciosa e foi feito um trabalho de reflexão sobre que possíveis estruturas poderiam ser necessárias para realização de cada teste.

De posse desse trabalho, foram entrevistados três pesquisadores, sendo um gerente de instalação teste de uma empresa privada e dois pesquisadores doutores que realizam ensaios pré-clínicos na Fundação Oswaldo Cruz. Essa entrevista foi realizada por telefone e as perguntas foram sobre a infraestrutura, os recursos humanos e os equipamentos necessários para realização de cada teste proposto. Procurou-se obter informações sobre a maneira que cada laboratório realiza o teste em questão.

Com base nas informações obtidas na literatura complementadas pelas entrevistas, foi montada uma estrutura teórica de uma plataforma de ensaios toxicológicos, que foi ainda submetida à avaliação de 2 (dois) especialistas doutores, um da Fundação Oswaldo Cruz e outro de uma empresa especializada em testes toxicológicos.

Na estruturação da plataforma foram contemplados os seguintes itens: instalações (espaço físico, equipamentos e instalações), recursos humanos (quantidade de profissionais e qualificação) e mecanismos de gestão utilizados. Foram levadas em consideração as Boas Práticas de Laboratório na estruturação dessa plataforma, que serão detalhadas na próxima seção, onde serão indicados os pontos que serão abordados mais adiante.

4.3. Propor ações de curto, médio e longo prazo para o estabelecimento da plataforma tecnológica para realização de ensaios pré-clínicos toxicológicos na Fiocruz.

Foi ainda verificada a possibilidade de implementação dessa plataforma na Fundação Oswaldo Cruz.

Num primeiro momento procurou-se identificar quais os pesquisadores da Fiocruz que realizam testes toxicológicos pré-clínicos. A forma de fazer isso foi a

através de uma listagem de todos os pesquisadores que pedem animais de laboratório ao Centro de Criação de Animais de Laboratório (CECAL) da Fiocruz.

Os pesquisadores identificados como realizadores de testes toxicológicos pré-clínicos foram contatados por telefone de forma a saber se os testes com que eles trabalham fazem parte do escopo do presente trabalho. A cada ligação foi feita apenas uma pergunta: o seu laboratório realiza testes pré-clínicos toxicológicos? Em caso de resposta afirmativa, a próxima pergunta foi: quais testes?

A partir dos dados obtidos e das características da Fiocruz, foram propostas ações no sentido de contribuir para que efetivamente a plataforma possa ser montada. Essas ações foram estruturadas de forma a solucionar as questões críticas encontradas ao longo da pesquisa.

5. RESULTADOS/DISCUSSÕES

5.1. Detalhamento das Boas Práticas de Laboratório

As Boas Práticas de Laboratório (BPL) são fundamentais para o bom funcionamento de um laboratório e principalmente para garantir a rastreabilidade de qualquer estudo realizado. Isso dá credibilidade ao ensaio realizado, bem como permite que ele seja utilizado ao longo do processo de registro de um medicamento.

Os pontos abordados nas BPL são os seguintes:

- Recursos: organização, pessoal, infraestrutura e equipamentos;
- Caracterização: itens em teste e sistemas em teste;
- Regras: protocolos, POPs;
- Resultados: dados brutos, relatório final e arquivos;
- Garantia da Qualidade: monitoramento independente dos processos de pesquisa.

Os itens 5.1.1 a 5.1.11 foram redigidos com base no Manual da OMS (2009), já que é o guia utilizado pelos profissionais entrevistados nesse trabalho.

5.1.1. Recursos – organização e pessoal

Deve haver definições claras da estrutura da organização de pesquisa e das responsabilidades de cada indivíduo que trabalha no laboratório. Isso significa que o organograma reflete a realidade da instituição e ele deve ser mantido atualizado. Os organogramas e as descrições de função dão uma noção imediata sobre as funções exercidas em um laboratório e estabelece as relações entre os diferentes departamentos e cargos. Também enfatizam que o número de pessoas disponíveis deve ser suficiente para realizar as tarefas necessárias em tempo e forma descritos nas BPL. As responsabilidades de cada indivíduo devem ser definidas em arquivos de educação e treinamento. De forma a manter níveis adequados de competência, as BPL atribuem importância considerável para qualificação do pessoal, incluindo treinamento interno e externo.

Uma função de grande importância nas BPL é a do Diretor do Estudo, que é um ponto chave de controle para todo o estudo. Essa pessoa é apontada pelo gerente da instalação teste e assumirá a responsabilidade pelo cumprimento das BPL. É também responsável pela adequação do protocolo do estudo e pela condução do estudo. O diretor do estudo deve, então, estar atento a todos os eventos que possam influenciar a qualidade e a integridade do estudo, avaliar seu impacto e instituir ações corretivas, caso necessário.

Os recursos humanos são um elemento crítico na implementação das BPL e na manutenção da conformidade em um laboratório. Isso porque é difícil que haja um comprometimento total da gerência e envolvimento formal de todo o pessoal, o que faz com que os sistemas de BPL fiquem sem credibilidade e não funcionem como deveriam.

O Gerente da Instalação teste tem a responsabilidade de prover instalações físicas adequadas e pessoal qualificado, planejar os estudos e alocação de recursos, definir todas as responsabilidades e treinamento do pessoal, manter arquivos e dados organizados, implementar processos para verificação dos resultados, cumprir as BPL.

As BPL se concentram bastante nos aspectos gerenciais e organizacionais do estudo, muitos dos quais dependem diretamente da competência do pessoal que realiza os estudos.

Os pontos chave no sistema de gerenciamento são os seguintes:

- Planejamento / alocação de recursos, que estão descritos em um Plano Mestre;

- Gerenciamento de pessoal rastreado por meio de documentos, ou seja, deve-se ter um organograma, bem como as descrições de função de cada um, currículos e registros de treinamento.

- Treinamento, que deve ser formal, aprovado, documentado em formato padrão, descrito em um POP e passível de reconstrução a partir de documentos arquivados.

5.1.2. Recursos – infraestrutura

Os princípios das BPL enfatizam que as instalações e equipamentos devem ser suficientes e adequados para a realização dos estudos. A área deve ser grande o suficiente para evitar problemas de superpopulação, contaminação cruzada ou confusão entre os projetos. As instalações (água, eletricidade, gás) devem ser adequadas e estáveis.

Todos os equipamentos devem funcionar adequadamente, sendo tudo controlado por um programa de validação/qualificação, calibração e manutenção. Os registros de uso e de manutenção são essenciais para que se saiba exatamente quem utilizou o equipamento, quando e para quê, bem como quando foram realizadas as manutenções. Esse controle permite a rastreabilidade da vida do equipamento a qualquer momento em que isso seja necessário.

A área deve ser desenhada de forma a fornecer um grau adequado de separação entre os diversos elementos do estudo, o que assegura que a perturbação seja minimizada e que atividades diferentes não interfiram umas nas outras. Isso pode ser feito da seguinte forma:

- Separação física, ou seja, paredes, portas, filtros ou cabines separadas ou isoladores. Em prédios novos, a separação é parte do desenho.

- Separação organizacional, isto é, realizando ações diferentes na mesma área, mas em horários diferentes, permitindo limpeza e preparação entre as operações, mantendo o pessoal separado ou estabelecendo áreas de trabalho definidas dentro do laboratório.

- Área de Preparação de Dose, é área relacionada ao controle do material teste e misturas com veículos (apesar de as mesmas considerações se aplicarem a outras áreas como laboratórios analíticos ou de histopatologia). Essa área deve ser grande o suficiente para acomodar o pessoal que trabalha lá e de forma que eles possam realizar

seu trabalho sem risco de misturar diferentes substâncias. Cada operador deve ter uma estação de trabalho suficientemente grande para permitir que a operação possa ser feita de forma eficiente. Para reduzir a chance de mistura de matérias ou de contaminação cruzada, também deve haver uma separação física entre as estações de trabalho.

O local de preparação das doses é uma área sensível e o acesso a essas instalações devem ser restritas, de forma a limitar a possibilidade de contaminação entre um estudo e outro. A construção deve ser de material de fácil limpeza, deve haver um sistema de ventilação.

Deve haver áreas separadas para armazenagem de itens em teste sob diferentes condições, armazenagem de itens controle, manuseio de materiais voláteis, pesagem, mistura de diferentes formulações de dose, armazenagem de formulações de dose preparadas, limpeza de equipamento, salas de escritório e descanso, vestiários.

- Instalações de animais

Essas instalações devem ser desenhadas e conduzidas de forma a minimizar os efeitos das variáveis ambientais no animal. Deve-se levar em consideração medidas que previnam que o animal tenha contato com doenças ou com um item em teste que não seja o que está sob investigação.

As especificações serão diferentes dependendo da natureza e da duração do estudo em realização. Os riscos de contaminação podem ser reduzidos por um sistema de barreira, onde todos os suprimentos, pessoal e serviços atravessem a barreira de forma controlada, bem como provendo corredores limpo e sujo para a movimentação de suprimentos novos e usados.

Um biotério bem desenhado deve manter separação para as seguintes áreas:

- espécies diferentes;
- estudos diferentes;
- quarentena;
- vestiários;
- recebimento de materiais;
- armazenagem
 - de ração e maravalha;
 - doses teste;
 - gaiolas;
- equipamento de limpeza;
- necropsia;
- procedimentos laboratoriais;

- utilidades;
- descarte de resíduos.

O prédio e suas salas devem ter espaço suficiente para que os animais e os estudos fiquem separados e para permitir que os operadores possam trabalhar de forma eficiente.

A temperatura, umidade e fluxo de ar devem ser mantidos em níveis definidos, dependendo das espécies em questão. As superfícies das janelas, portas, pisos e tetos devem ser construídos de forma a permitir limpeza completa e fácil, e não devem ter frestas e arestas onde sujeira, poeira e água possam se acumular.

Quaisquer que sejam as competências ou necessidades do seu laboratório, deve ser mantida uma separação adequada pode ser alcançada pelas seguintes medidas:

- minimizar o número de pessoas com permissão para entrar na sala;
- restringir a entrada nas salas onde ficam os animais;
- organizar um fluxo de trabalho de forma que os materiais sujos e limpos sejam manuseados pelo laboratório em diferentes horários, ou por locais diferentes;
- assegurar que o pessoal troque de roupa em diferentes locais dentro da instalação;
- assegurar que as salas sejam limpas e higienizadas regularmente, principalmente entre um estudo e outro.

5.1.3. Recursos – equipamentos

Para uma condução do estudo apropriada, são necessários equipamentos apropriados e de capacidade adequada. Todo equipamento deve ser adequado ao uso a que se propõe e deve ser calibrado adequadamente, bem como deve ser realizada manutenção preventiva, de forma a assegurar uma performance confiável e precisa. Registros dos reparos e manutenção de rotina e qualquer outro trabalho que não seja rotina devem ser registrados e arquivados, de forma a assegurar a confiabilidade dos dados gerados e garantir que os dados não tenham sido invalidados e ou perdidos como resultado do uso de um equipamento descalibrado, inadequado ou quebrado.

A decisão da precisão de um equipamento é uma responsabilidade científica e é normalmente definido em Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).

A calibração de todos os equipamentos, sejam eles usados para gerar dados (equipamentos analíticos ou balanças) ou para manter condições padrão (refrigeradores ou equipamento de ar condicionado), deve funcionar segundo especificações pré-determinadas.

O equipamento deve passar por manutenção preventiva (manutenção regular antes de o equipamento ficar danificado) e corretiva (manutenção realizada após a detecção de um defeito). Deve haver ainda backup de equipamentos essenciais e geradores .

Todas as manutenções preventivas ou corretivas e calibrações devem ser registradas de forma a garantir que o equipamento usado tenha sido adequado para a tarefa e que ele esteja operando de acordo com suas especificações.

5.1.4. Caracterização – substância teste e substância de referência

De forma a realizar um estudo de forma correta, é essencial saber o máximo possível sobre os materiais usados durante o estudo. Para estudos não-clínicos que pretendem avaliar a segurança relacionada às propriedades dos compostos farmacêuticos é pré-requisito ter conhecimento detalhado sobre as propriedades da substância teste e do sistema teste (frequentemente um animal ou uma parte isolada dele) no qual a substância teste será administrada.

Características como identidade, potência, composição, estabilidade, perfil de impureza etc devem ser conhecidas para a substância teste, para o veículo e para qualquer material de referência.

Se o sistema teste for um animal (o que é bastante frequente), é essencial saber detalhes como cepa, status de saúde, valores biológicos normais, etc.

A identidade, atividade, estabilidade e biodisponibilidade da substância teste são centrais para a validação do estudo. Para validar o estudo, deve-se estar apto a demonstrar que o sistema teste (frequentemente um animal) tenha recebido a quantidade certa da substância teste (normalmente uma formulação química). Isso é assegurado por um controle apropriado do item teste em todos os estágios de sua utilização e pelo acompanhamento de registros e documentos.

As doses da substância teste utilizadas durante o estudo no preparo das formulações, bem como as perdas ao longo do processo devem ser medidas e

registradas. Ao final do estudo, quantidades excedentes do item teste devem ser descartadas de forma correta. Este evento final também deve ser documentado para que seja possível calcular a quantidade de item teste consumida.

5.1.5. Caracterização – sistema teste (animais)

Com frequência, os sistemas teste são animais, mas eles também podem ser plantas, bactérias, órgãos, células ou até equipamentos analíticos. As definições de BPL de um sistema teste são bastante amplas. De forma geral, um sistema teste é qualquer sistema exposto a um item teste durante um estudo de segurança.

Instalações

Para cada estudo, o Diretor do Estudo e/ou o gerente de cuidados animais deve assegurar que o pessoal, os procedimentos, a infraestrutura e os equipamentos estão alocados para preencher as necessidades do estudo. Em particular, é importante comprar animais e prevenir a disseminação da doença pelas técnicas de separação mencionadas na seção dos recursos.

Escolha do Sistema Teste

O pesquisador deve aliar a qualidade do animal e a quantidade de animais (nem tão poucos, nem demais) para cumprir os requerimentos da pesquisa. O Diretor do Estudo e o Gerente da Instalação definem o animal (fenótipo, genótipo, quantidade, gênero, idade, fornecedor, etc) para qualquer estudo considerando os seguintes pontos:

- Propriedade do modelo; uso terapêutico pretendido em humanos;
- Estudo e objetivos do projeto;
- Disponibilidade dos dados históricos e experiências passadas.

A escolha do sistema teste deve ser justificada no protocolo.

Fornecedores, Pedido, Transporte e Recebimento

Em comparação ao custo total de testes não-clínicos, a quantia gasta na compra do sistema teste é insignificante. Deve-se, no entanto, sempre insistir na melhor qualidade disponível. Nenhuma quantia ou esforço gastos na infraestrutura, controle

ambiental e equipamentos podem compensar o impacto da baixa qualidade dos animais em um estudo.

A qualidade do animal, da alimentação e da maravalha é de grande importância para os estudos. É uma boa prática avaliar esses fatores por meio de realização de auditoria dos processos dos fornecedores. Normalmente, em um grupo de garantia da qualidade, a pessoa responsável pelo cuidado animal se encarregará disso. Os compradores devem estar certos de que estão pagando pelo que estão comprando e que as variáveis não estão interferindo na qualidade do animal (ex: contaminação por pesticidas, renovação de colônia, doenças, tratamentos veterinários, problemas de transporte etc). Idealmente, a instalação teste e os fornecedores devem se considerar como “parceiros de pesquisa”. Os fornecedores devem ter expertise em seu campo. Eles disponibilizarão informações úteis e podem fazer sugestões valiosas para melhorar a qualidade do estudo em relação ao produto. Os fornecedores devem providenciar certificados de saúde animal, de limpeza em relação a parasitas, da qualidade nutricional da comida, de contaminantes na maravalha, etc.

Fazem parte dos dados brutos, os formulários de pedido de animais, certificados de transporte e faturas de fornecedores. Na chegada dos animais, eles devem ser inspecionados de acordo com o POP, isto é, são contados, separados por sexo e avaliados pela saúde em geral e pelo estresse sofrido com o transporte. O registro de dados (incluindo uma checagem para verificar que os animais estão de acordo com as especificações de idade e peso como definidos no protocolo) deve ser completado e colocado na pasta do estudo. Os animais são, então, transportados para a sala de estudo e instalados em gaiolas limpas com comida e água à vontade, de acordo com os POPs de manuseio animal.

Aclimação

Para a maioria dos estudos, os POPs e o protocolo requerem que os animais permaneçam em fase de aclimação durante os quais o estado de saúde é avaliado e animais incompatíveis são eliminados. A duração dessa aclimação depende das espécies, do fornecedor e do tipo de estudo. Devem ser mantidos registros do preparo da sala, recebimento dos animais, acasalamento, condições ambientais e quaisquer outras atividades durante esse período e no período subsequente.

Identificação do Animal

Deve ser mantida a identificação dos animais durante o estudo. A maior parte dos laboratórios usa um sistema de cartões na gaiola, que pode ser temporário antes da avaliação do grupo e pode receber um status de permanente depois de um tempo; isso deve ser feito conforme o protocolo ou POP. O Departamento de Gerenciamento Animal deve usar números temporários consecutivos para assegurar a contabilidade animal. Cartões permanentes serão utilizados seguindo um código de cores interno padronizado (o mesmo para as formulações de dose, etc). Os números dos animais devem ser únicos durante o estudo; eles devem aparecer em todos os dados e espécimes pertencentes ao animal durante todas as fases do estudo.

Acasalamento

Operações de acasalamento de rotina (isto é, troca e limpeza de sala, rack e gaiola, alimentação, água, checagens ambientais) e especiais (isto é, jejum) são feitas de acordo com o POP e deve ser registrada no livro de registro da sala do animal ou outro sistema apropriado. Quaisquer observações relevantes feitas nesse período (isto é, alimentador vazio, sangue na maravalha etc) devem ser documentadas e o Diretor do Estudo notificado, caso necessário.

Controle e Monitoramento das Variáveis Ambientais

A consciência das circunstâncias que podem afetar a qualidade ou a integridade dos dados depende muito do conhecimento dos animais e de suas necessidades fisiológicas e comportamentais, dos processos definidos nos POPs e, claro, da garantia da formação de pessoal científico, técnico e de qualidade.

Os POPs são definidos e aprovados para cada situação experimental (tamanho e tipo de estudo; espécies), os dados são coletados e avaliados regularmente pela equipe profissional.

Desvios da norma definida ou eventos inesperados são documentados e avaliados para que sejam tomadas ações corretivas, para qualquer possível efeito sobre o estudo e consideração subsequente no relatório final.

Em geral, cada variável é avaliada quanto à fonte do problema, ao risco oferecido, ao monitoramento adequado, ao controle das influências.

Finalmente, um banco de dados históricos deve ser compilado de valores de controle normal específico das espécies (idade/peso, curvas de mortalidade, hematologia e bioquímica, sinais histopatológicos selecionados, teratologia, tipo de tumor espontâneo e incidência etc) com os quais os parâmetros do grupo controle

podem ser comparados. Desvios significantes da normalidade requisitarão revisão do cuidado animal e dados de controle do ambiente e procedimentos.

5.1.6. Regras – protocolo ou plano de estudo

O protocolo ou plano de estudo é o esboço do desenho e da condução do estudo e dá evidências de que o estudo foi planejado apropriadamente. Os principais passos dos estudos conduzidos em acordo com as BPL são descritos no protocolo do estudo. O protocolo deve ser aprovado pelo Diretor do Estudo, com assinatura datada de antes de o estudo iniciar. Alterações no desenho do estudo só podem ser realizadas por meio de procedimentos de alterações formais. Tudo isso assegurará que o estudo pode ser reconstruído posteriormente. Os princípios das BPL listam os elementos essenciais a serem incluídos em um protocolo de estudo.

5.1.7. Regras – procedimentos escritos

Os detalhes de todos os procedimentos de rotina não devem ser descritos no protocolo do estudo, eles são descritos nos Procedimentos Operacionais Padrão (POPs), que são parte do sistema de documentação de uma instituição. Os POPs contribuem para a redução de vieses nos estudos pela padronização das técnicas que são frequentemente utilizadas. Os laboratórios também precisam padronizar certas técnicas para facilitar a comparação dos resultados entre os estudos. O fato de estar apto a reconstruir exatamente um estudo é condição *sine qua non* para a aceitação mútua de dados, o que é uma outra razão para a adoção dos POPs.

Os POPs devem ser revisados regularmente e podem ser modificados de forma a refletir o estado da arte atual. Finalmente, os POPs devem estar disponíveis diretamente no ambiente de trabalho para consulta em sua versão atualizada.

5.1.8. Resultados – dados brutos

Todos os estudos geram dados brutos, que são os dados originais coletados durante a condução de um procedimento. Eles são essenciais para a reconstrução dos estudos e contribuem para a rastreabilidade dos eventos de um estudo. Dados brutos são os resultados de um experimento nos quais as conclusões dos estudos serão baseadas. Alguns dados brutos podem ser tratados estatisticamente, enquanto outros podem ser usados diretamente. Em qualquer um dos casos, os resultados e suas interpretações fornecidas pelos cientistas no relatório do estudo devem ser uma reflexão verdadeira e precisa dos dados brutos.

5.1.9. Resultados – relatório do estudo

O relatório do estudo, como todos os outros aspectos científicos do estudo, é de responsabilidade do Diretor do Estudo. Ele deve assegurar que o relatório descreva o estudo de forma precisa. O Diretor do Estudo é responsável pela interpretação científica incluída no relatório do estudo é também responsável por declarar o quanto o estudo foi conduzido de acordo com os princípios das BPLs. Os princípios das BPLs listam os elementos essenciais que devem ser incluídos no relatório do estudo.

5.1.10. Resultados – arquivos

Um estudo deve poder ser refeito muitos anos após seu término. Sendo assim, o arquivamento deve permitir que os dados sejam mantidos em segurança por longos períodos de tempo sem perda ou deterioração, e preferencialmente, de forma que permita uma rápida atualização. De forma a manter um armazenamento seguro dos dados, é uma prática a restrição de acesso à sala de arquivo, bem como os registros de documentos retirados e devolvidos ao arquivo. Mesmo se o acesso for restrito a algumas pessoas da equipe, são mantidos registros de pessoas que entram e saem do arquivo.

5.1.11. Resultados – garantia da qualidade

A garantia da qualidade, como definido nas BPL, é uma equipe independente da condução do estudo que pretende garantir o gerenciamento do cumprimento das BPL. Funciona como testemunha de todo o processo de pesquisa pré-clínica. A OECD produziu um documento guia sobre Garantia da Qualidade e BPL, ENV/JM/MONO(99)20, de 26 de outubro de 1999 (OECD Series on Principles of GLP and Compliance Monitoring – Séries da OECD sobre Princípios das BPL e Monitoramento de Conformidade)), Número 4 (revisado), Quality Assurance and GLP (Garantia da Qualidade e BPL).

A garantia da qualidade realiza três tipos de inspeção:

- Inspeções baseadas no estudo: são agendadas de acordo com a cronologia de um dado estudo, normalmente por uma primeira identificação das fases críticas do estudo;

- Inspeções baseadas nas instalações: não são baseadas em estudos específicos, mas cobrem as instalações em geral e atividades inerentes a um laboratório (instalações, serviços de suporte, sistemas de computadores, treinamento, monitoramento do ambiente, manutenção, calibração, etc);

- Inspeções baseadas em processos: também não são baseadas em estudos específicos. São conduzidas para monitorar procedimentos ou processos de natureza repetitiva e são genericamente realizados de forma aleatória. Essas inspeções são realizadas quando um processo é realizado com frequência em um laboratório e é considerado ineficiente ou não-prático.

5.2. Detalhamento dos testes toxicológicos

Baseado em Kerns & Di (2008), lembrando os testes que fazem parte do escopo deste trabalho por serem testes imprescindíveis no processo de desenvolvimento pré-clínico de um fármaco, tem-se os seguintes testes:

- in vitro* – teste de genotoxicidade – teste de mutação reversa em bactérias;

- in vitro* – teste de genotoxicidade – aberração cromossômica – teste de micronúcleo;

in vivo – teste de genotoxicidade – aberração cromossômica realizado com células de medula óssea de camundongos;

in vivo – farmacocinética (bioquímica toxicológica);

in vivo – toxicidade aguda;

in vivo – toxicidade de dose repetida.

Testes complementares – testes farmacológicos para acompanhamento das funções vitais dos indivíduos sob estudo;

- patologia dos indivíduos mortos e/ou sacrificados no estudo;
- histologia completa dos indivíduos participantes do estudo.

Esta seção tratará de especificar, em relação a cada um dos testes acima relacionados, a metodologia de trabalho pelos guias da OCDE e do ICH, de forma a se ter uma noção da necessidade em relação às instalações (espaço físico, equipamentos e instalações), recursos humanos (quantidade de profissionais e qualificação) e mecanismos de gestão.

5.2.1. *in vitro* – teste de genotoxicidade – teste de mutação reversa em bactérias

O teste mutação reversa em bactérias é eficiente na detecção de uma grande variedade de compostos mutagênicos por detectar mutações pontuais pela substituição de pares de bases e de mutações por deslocamento do quadro de leitura. O guia do ICH, intitulado Guia para realização de testes de genotoxicidade e interpretação de dados para medicamentos com pretensão de uso em humanos (S2, R1) recomenda como teste de mutação reversa em bactérias com as seguintes cepas:

Salmonella typhimurium TA98; TA100; TA1535; TA1537 ou TA97 ou TA97a; TA102 ou *Escherichia coli* WP2 *uvrA* ou *Escherichia coli* WP2 *uvrA* (pKM101).

A maioria dessas linhagens bacterianas apresenta características que as tornam mais sensíveis para detecção de mutações, incluindo sequências sítio-específicas de DNA que respondem positivamente para reversão, aumento de permeabilidade celular a grandes moléculas, ausência do sistema de reparo de DNA livre de erro e plasmídios que contêm genes que causam aumento do processo de reparo sujeito a erro. A

especificidade das linhagens fornece informações sobre os tipos de mutações que são induzidas por agentes genotóxicos.

O guia do ICH supracitado indica a diretriz da OECD de número 471 como fonte de consulta para realização do teste, já que ela demonstra a metodologia de realização do teste.

Existe outro tipo de teste que também detecta mutação reversa em células de mamíferos. No presente trabalho, esse teste não será abordado.

O teste de mutação reversa em bactérias utiliza células procarióticas, que diferem das células de mamíferos no que concernem fatores como permeabilidade, metabolismo, estrutura cromossômica e processos de reparo de DNA. Os testes conduzidos *in vitro* geralmente requerem o uso de fonte exógena de ativação metabólica como fração S de fígado de rato pré-tratado com Arador 1254 (indutor enzimático) ou combinação de fenobarbital e β -naftoflavona. Os sistemas de ativação metabólica *in vitro* não conseguem imitar inteiramente as condições de mamíferos *in vivo*. Dessa forma, o teste realizado *in vitro* não fornece informação direta no potencial de mutagenicidade e carcinogenicidade de uma substância em mamíferos.

O teste de mutação reversa em bactérias é comumente empregado como uma varredura inicial para atividade genotóxica/mutagênica, em particular, para atividades indutoras de mutagenicidade. Um extenso banco de dados demonstrou que muitos agentes químicos que são positivos neste teste também demonstraram atividades mutagênicas em outros testes. Há exemplos de agentes mutagênicos que não são detectados por este teste.

O teste de mutação reversa em bactérias pode não ser apropriado para avaliação de certas classes de químicos, como por exemplo, de compostos altamente bactericidas (alguns antibióticos, por exemplo) ou aqueles que interferem especificamente com o sistema de replicação de células de mamíferos (alguns inibidores de topoisomerase e alguns análogos de nucleosídeos). Nesses casos, testes de mutação reversa em células de mamíferos podem ser mais apropriados.

O teste envolve diferentes linhagens de *S. typhimurium* auxotróficas para a histidina que são expostas à substância teste na presença e na ausência de um sistema de ativação metabólica exógeno. No método de incorporação em placa, essas suspensões são misturadas com ágar de superfície contendo histidina e biotina plaqueada imediatamente em meio de cultura de ágar mínimo. No método de pré-incubação, a mistura tratamento é incubada e depois misturada com ágar de superfície antes de ser plaqueada em um meio mínimo. Em ambas as técnicas, após 48-72 horas de incubação

a 37°C, colônias revertentes são contadas e comparadas ao número de colônias revertentes espontâneas nas placas controle com solvente. Um aumento significativo do número de revertentes nas placas teste em relação às placas controle indicam presença de atividade mutagênica na amostra testada.

Já foram descritos muitos procedimentos para realização do teste de mutação reversa em bactérias. Dentre os métodos comumente utilizados além do método de incorporação em placa e o método de pré-incubação, são descritos o método de flutuação e o método de suspensão. Foram ainda descritas modificações para os testes de gases ou vapores.

Os procedimentos descritos no guia da OECD referem-se aos métodos de incorporação em placa e de pré-incubação. Ambos são aceitáveis na condução de experimentos com ou sem ativação metabólica. Alguns compostos podem ser detectados de forma mais eficiente com a utilização do método de pré-incubação. Esses compostos pertencem às classes químicas que incluem cadeia curta de nitrosaminas alifáticas, metais divalentes, aldeídos, compostos azo e diazo, alcalóides pirrolizidínicos, compostos alílicos e compostos nitro. Também é reconhecido que certas classes de mutagenos não são sempre detectadas utilizando os procedimentos padrão como incorporação de placa ou pré-incubação. Devem ser tratados como casos especiais e é fortemente recomendado que procedimentos alternativos devem ser utilizados para sua detecção.

5.2.2. *in vitro* – teste de genotoxicidade – aberração cromossômica – teste de micronúcleo

Segundo o Guia da OECD de número 487, o teste *in vitro* de micronúcleo (MNvit) é um ensaio de genotoxicidade/mutagenicidade para detecção de micronúcleos no citoplasma de células em interfase. Os micronúcleos podem surgir a partir de fragmentos de cromossoma acêntrico (isto é, com falta de centrômero) ou de cromossomos inteiros que não conseguem migrar para os pólos durante o estágio de anáfase no processo de divisão celular. O ensaio detecta a atividade de químicos clastogênicos e aneugênicos nas células que passam pela divisão celular durante ou após a exposição à substância teste.

A presença do micronúcleo representa dano que foi transmitido às células filhas, ao mesmo tempo em que aberrações cromossômicas identificadas em células de metáfase podem não ser transmitidas. Devido ao fato de os micronúcleos em células de interfase poderem ser identificados relativamente de modo objetivo, o técnico do laboratório precisa apenas determinar se as células se dividiram ou não e quantas contêm micronúcleo. Como resultado, as preparações podem ser realizadas de modo relativamente rápido e a análise pode ser automatizada. Isso faz com que seja prático contar milhares de células por tratamento, ao invés de centenas delas, aumentando o poder do ensaio. Finalmente, à medida que os micronúcleos surgem de cromossomos retardados, há um potencial para detecção de agentes indutores de aneuploidia que são difíceis de estudar em teste de aberração cromossômica convencional.

O teste MNvit é um método *in vitro* que normalmente usa culturas de células humanas ou células de roedores. Fornece uma base compreensiva para investigação de potencial de dano *in vitro* devido ao fato de tanto aneugênicos quanto clastogenos poderem ser detectados.

Os testes conduzidos *in vitro* geralmente requerem o uso de sistema exógeno para ativação metabólica, a não ser que as células sejam metabolicamente competentes no que diz respeito às substâncias em teste. A ativação metabólica exógena não reproduz inteiramente as condições *in vivo*. Deve-se ter cuidado para evitar condições que levem a resultados falso-positivo que não refletem mutagenicidade intrínseca, e pode ser motivada por mudanças no pH ou osmolalidade, ou por altos níveis de citotoxicidade.

O princípio do teste é que linhagens de células de roedores (CHO, V79, CHL/IU e L5178Y) ou linfócitos humanos são expostas à substância teste com ou sem ativação metabólica exógena.

Durante ou após a exposição à substância teste, as células são cultivadas por um período suficiente para permitir dano no cromossoma ou no fuso de forma a levar à formação de micronúcleo nas células de interfase. Para indução de aneuploidia, a substância teste deve ser introduzida durante a mitose. As células de interfase colhidas e coradas são analisadas para verificar a presença de micronúcleo. Idealmente, o micronúcleo deve apenas ser contado nas células que tiverem completado a mitose durante a exposição à substância teste ou durante o período pós-exposição. Em culturas que tiverem sido tratadas com um bloqueador citocinético, isto é alcançado pela contagem apenas das células binucleadas. Na ausência de um bloqueador citocinético, é importante demonstrar que as células analisadas tenham passado pela divisão celular

durante ou após a exposição à substância teste. Para todos os protocolos é importante demonstrar que a proliferação celular tenha ocorrido tanto para as culturas controle quanto para as culturas tratadas, e a extensão da indução de citotoxicidade ou citostase pela substância teste.

Resultados positivos do ensaio MNVit indica que a substância teste induz a quebra cromossômica em culturas de células de mamíferos. Resultados negativos indicam que sob as condições utilizadas a substância teste não induz quebras cromossômicas e/ou deleções e adições em culturas de células de mamíferos.

5.2.3. *in vivo* – teste de genotoxicidade – aberração cromossômica realizado com células de medula óssea de roedores

De acordo com o guia de número 475 (OECD, 1997), o teste de indução de aberração cromossômica é utilizado para detectar aberrações cromossômicas estruturais induzidas por substâncias teste em cultura de células de medula óssea de animais, usualmente de roedores. Aberrações estruturais de cromossoma podem ser de dois tipos, cromossoma ou cromatídeo. Um aumento na frequência de células poliploídicas indicar que um químico tem potencial para induzir aberrações numéricas. Com a maioria dos mutagenos químicos, aberrações induzidas são do tipo cromatídeo, mas aberrações do tipo cromossoma podem também ocorrer. Mutações cromossômicas e eventos relacionados são a causa de muitas doenças genéticas humanas e há evidência substancial que as mutações cromossômicas e eventos relacionados que causem alteração nos oncogenes e nos genes supressores de tumor estão envolvidos no câncer em humanos e sistemas experimentais.

Ratos e camundongos são rotineiramente usados neste teste. A medula óssea é o tecido alvo neste teste, na medida em que é um tecido altamente vascularizado e contém uma população de células que podem ser facilmente isoladas e processadas.

Este teste de aberração cromossômica é especialmente relevante para avaliar o risco mutagênico, no que concerne o metabolismo *in vivo*, a farmacocinética e os processos de reparo do DNA, apesar de esses parâmetros podem variar entre espécies e tecidos. Um teste *in vivo* é também útil na investigação de um efeito mutagênico detectado em um teste *in vitro*.

Os animais são expostos à substância teste por via apropriada de exposição e são sacrificados em momentos apropriados após o tratamento. Uma hora antes do sacrifício, os animais são tratados com um agente que interrompa a mitose na metáfase (ex: colchicina ou Colcemid®). Preparações com cromossoma são feitas a partir das células da medula óssea e coradas, as células de metáfase são analisadas para verificar aberrações cromossômicas.

5.2.4. *in vivo* – farmacocinética (bioquímica toxicológica);

Estudos para examinar a toxicocinética de uma substância química são conduzidos para obter informações adequadas sobre sua absorção, distribuição, biotransformação (metabolismo) e excreção, de forma a auxiliar a estabelecer uma relação entre a concentração ou dose à toxicidade observada, além de auxiliar a entender seu mecanismo de toxicidade. A toxicocinética pode auxiliar na compreensão dos efeitos toxicológicos os estudos de toxicologia para demonstrar que os animais teste são sistematicamente expostos à substância teste e pela elucidação de quais são as metades circulantes (substância de origem / metabólitos). Parâmetros toxicocinéticos básicos determinados a partir desses estudos também fornecerão informações sobre o potencial de acumulação da substância teste nos tecidos e/ou órgãos e o potencial para indução da biotransformação como resultado da exposição à substância teste.

Os dados toxicocinéticos podem contribuir para a avaliação da adequação e relevância dos dados de toxicidade animal para extrapolação para o risco humano e/ou avaliação de risco. Adicionalmente, estudos podem fornecer informações úteis para determinação das doses para estudos de toxicidade (cinética linear vs. não linear), efeitos da via de administração, biodisponibilidade e questões relacionadas ao desenho do estudo.

Há importantes usos para dados de metabólitos/toxicocinética como sugestivo de toxicidades possíveis e modos de ação e sua relação com a dose e rota de exposição. Além disso, dados de metabolismo podem fornecer informações úteis para avaliação da significância toxicológica das exposições a metabólitos produzidos de forma exógena a partir da substância teste.

Autoridades competentes têm diferentes exigências e necessidades no que concerne a medição dos valores limite e parâmetros relacionado à toxicocinética para

diferentes classes de substâncias químicas (ex: pesticidas, biocidas, químicos industriais). O Guia de número 417 da OCDE descreve testes toxicocinéticos, que envolve múltiplas medições e valores limite.

Todas as informações sobre a substância teste, metabólitos relevantes e análogos devem ser considerados por teste em laboratório antes de conduzir o estudo de forma a enfatizar a qualidade do estudo e evitar o uso desnecessário de animais. Isso pode incluir dados de outros métodos de teste relevantes (estudos *in vivo*, estudos *in vitro* e/ou avaliações *in silico*). Propriedades fisicoquímicas, como coeficiente de partição octanol-água (expresso em log POW), pKa, solubilidade em água, pressão de vapor e peso molecular de uma substância podem ser úteis no planejamento do estudo e interpretação dos resultados.

Para o estudo piloto, normalmente, uma dose única via oral é suficiente. A dose não deve ser tóxica, mas deve ser alta o suficiente para permitir a identificação do metabólito na excreta (e no plasma, caso apropriado).

Para os estudos principais, é necessário um mínimo de duas doses, devido ao fato de as informações reunidas a partir de no mínimo grupos com duas doses podem auxiliar na definição da dose em outros estudos de toxicidade, e auxiliar na avaliação da dose resposta em testes de toxicidade já disponíveis. Ambas as doses devem ser altas o suficiente para permitir identificação do metabólito na excreta (e no plasma, se apropriado). As informações dos dados de toxicidade disponíveis devem ser consideradas para seleção da dose. Se a informação não estiver disponível, um valor para a dose máxima deve ser menor do que a DL50 ou (vias oral e dérmica) ou LC50 (via inalatória) ou menor do que o menor valor da faixa estimada da toxicidade aguda pode ser considerada. A menor dose deve ser uma fração da maior dose.

Medições realizadas:

- Balanço da massa (percentual da substância administrada excretada na urina, fezes, ar expirado e o percentual presente nos tecidos, carcaça residual e lavagens das excretas presentes nas gaiolas)
- Absorção
- Biodisponibilidade
- Distribuição no tecido
- Metabolismo
- Excreção

5.2.5. *in vivo* – toxicidade aguda;

A OECD possui guias para três tipos de ensaio de toxicidade aguda oral: o guia de número 423 (2001), que trata do método clássico; o 420 (2001), que aborda o procedimento de dose fixada; e o de número 425 (2008), que descreve o procedimento *up and down*. Optou-se pela descrição do método clássico e suas implicações de forma aleatória, já que a variação entre os testes é de número de doses, número de animais, posologia.

O método clássico de determinação de toxicidade aguda é um procedimento que utiliza 3 animais de um único sexo por vez. Dependendo da mortalidade e/ou morbidade dos animais, em média 2-4 passos podem ser necessários para permitir julgamento sobre a toxicidade aguda da substância teste. Esse procedimento é reprodutível, utiliza bem poucos animais, é baseado em avaliações biométricas com doses fixas, adequadamente separadas para permitir que uma substância seja ranqueada classificação e avaliação de risco. Esse método foi adotado em 1996 e extensivamente validado *in vivo* e comparado aos dados da literatura no que diz respeito à DL50, tanto nacional quanto internacionalmente.

O método utiliza doses pré-definidas e os resultados permitem que uma substância seja ranqueada e classificada de acordo com o Sistema Globalmente Harmonizado para a classificação de químicos que causam toxicidade aguda.

Em princípio, o método não pretende permitir o cálculo de uma DL50, mas permite a determinação das faixas definidas de exposição onde a letalidade é esperada, na medida em que a proporção dos animais mortos é o limite deste teste.

O laboratório teste deve considerar todas as informações disponíveis sobre a substância teste antes de conduzir o estudo. Essas informações incluem a identidade e a estrutura química da substância, suas propriedades físico-químicas, o resultado de qualquer teste de toxicidade *in vivo* ou *in vitro* realizado com a substância, dados toxicológicos de substâncias com estrutura semelhante, e o uso antecipado da substância. Essas informações são necessárias para satisfazer a todos os envolvidos que o teste é relevante para a proteção da saúde humana e auxiliará na seleção da dose mais apropriada.

É princípio do teste que, baseado em um procedimento gradual com o uso do mínimo número de animais por etapa, obtém suficiente informação no teste de toxicidade aguda para permitir sua classificação. A substância é administrada oralmente

para um grupo de animais experimentais em uma das doses definidas. A substância é testada utilizando um procedimento gradual, cada etapa utilizando três animais de um único gênero (normalmente fêmeas). A ausência ou presença de mortalidade relacionada à substância teste em uma etapa vai definir a próxima etapa, ou seja:

- não são necessários mais testes;
- mesma dosagem administrada em mais três animais;
- administrar uma dose acima ou uma abaixo em mais três animais.

5.2.6. *in vivo* – toxicidade de dose repetida.

De acordo com o guia de número 408 da OECD (1998), na avaliação das características tóxicas de uma substância, a determinação da toxicidade oral usando doses repetidas pode ser realizada após terem sido obtidas informações iniciais sobre toxicidade no teste de toxicidade aguda.

Este teste pretende investigar os efeitos de uma grande variedade de alvos em potencial. Fornece informações sobre os possíveis riscos para a saúde que podem existir pela repetição da exposição por um período de tempo relativamente limitado, incluindo efeitos nos sistemas nervoso, imune e endócrino. Com relação a esses *endpoints*, pretendem identificar químicos com potencial neurotóxico, que pode garantir uma investigação mais profunda nesse aspecto e químicos que interferem na fisiologia da tireóide. Além disso, pode fornecer dados de químicos que afetam os órgãos reprodutivos masculino e/ou feminino em animais adultos e pode dar uma indicação dos efeitos imunológicos.

A substância teste é oralmente administrada diariamente em doses graduais para diversos grupos de animais, uma dose por grupo por um período de 28 dias. Durante o período de administração os animais são observados minuciosamente, cada dia para verificação de sinais de toxicidade. Os animais que morrem ou são sacrificados durante o teste precisam passar por necropsia e ao final do teste, os animais que sobreviverem também deverão ser sacrificados e passar por necropsia. Um estudo de 28 dias fornece informações sobre o efeito da exposição oral repetida e pode indicar a necessidade de estudos com uma maior duração. Além disso, fornece informação sobre a seleção das

concentrações para estudos de longo prazo. Os dados provenientes da utilização do teste devem permitir a caracterização da toxicidade da substância teste.

Deve ser realizada necropsia e análise detalhada dos seguintes órgãos: fígado, rins, adrenais, testículos, epidídimo, próstata, vesículas seminais com glândulas coaguladoras, timo, baço, cérebro, coração, ovários, útero.

Os seguintes tecidos devem ser preservados no meio de fixação mais apropriado para exame histopatológico: todas as lesões maiores, cérebro (regiões representativas), coluna, olho, estômago, intestinos, fígado, rins, adrenais, baço, coração, timo, tireóide, traquéia, pulmões, gônadas, órgãos sexuais acessórios, vagina, bexiga, linfonodos, nervo periférico (ciático ou tibial), músculos esqueléticos e ossos, com a medula óssea. Além disso, outros órgãos que sejam o alvo da substância teste devem ser preservados.

5.3. Estruturação da Plataforma

Não é possível definir a infraestrutura necessária para por em prática os conjuntos de conhecimentos listados acima de forma individual. É preciso que toda uma gama de equipamentos, instalações, construções exista para dar margem à execução desse conjunto de conhecimentos. Sendo assim, serão definidos abaixo alguns pontos relacionados à infraestrutura necessária ao funcionamento de um laboratório de ensaios pré-clínicos.

5.3.1. Infraestrutura

De acordo com a NBR 17.025 (2005), a acreditação é a evidência da competência dos laboratórios. Um laboratório com ensaios acreditados consiste num laboratório que comprovadamente possui os recursos humanos, equipamentos, métodos, instalações e procedimentos laboratoriais necessários para produzir resultados que cumpram os requisitos dos clientes e os requisitos de boas práticas aplicáveis. Um ensaio acreditado é o reconhecimento formal de que o laboratório está operando com sistema de qualidade documentado e tecnicamente competente segundo critérios

estabelecidos por normas internacionais, garantindo a rastreabilidade de todos os ensaios lá realizados (Inmetro, 2005).

5.3.1.1. Segurança e climatização

De forma geral, a montagem de um laboratório deve incluir todos os requisitos de segurança. Há detalhes que devem ser previstos no projeto inicial, evitando futuras alterações na montagem final. Assim, itens como a topografia do terreno, orientação solar, ventos, segurança do edifício e do técnico, situação e tipo das bancadas, capelas, estufas, o tipo do piso e sua cor, material de revestimento das paredes e sua cor, iluminação artificial e ventilação devem ser especificamente dirigidas ao tipo de laboratório que se quer construir. Os aspectos listados a seguir já estão nas BPL, mas alguns detalhes são importantes.

✓ O piso deve ser construído com material resistente tanto mecânica como quimicamente; não deve haver diferenças no nível no piso. As paredes devem ser revestidas com material resistente quimicamente e oferecer facilidade de limpeza; devem ser claras, de cores repousantes e foscas. Não deve haver frestas nem arestas, de forma que a limpeza possa ser realizada facilmente;

✓ Deve haver no mínimo duas portas afastadas o mais possível entre si e abrindo sempre para fora. As janelas são necessárias, pois o laboratório deve ser um local convenientemente iluminado, e deve conter um sistema de controle de raios solares (persianas metálicas, nunca cortinas);

✓ É necessário que os objetos utilizados passem por um corredor “sujo” e que os objetos limpos passem por outro corredor “limpo”, evitando que haja contaminação dos materiais a ser utilizados nos estudos;

✓ As bancadas devem ser posicionadas de forma que a luz natural incida nelas lateralmente para que não ocorra sombra sobre a bancada e para que a luz não incida diretamente aos olhos do laboratorista. A distância entre duas bancadas é muito importante para que haja livre tráfego de carrinhos de vidraria, minimizando o risco de choques com os laboratoristas;

✓ Chuveiro e lavador de olhos: devem ser posicionados junto às capelas e o mais próximo possível da saída, caso haja necessidade de, além da lavagem completa e

abundante do corpo, de um atendimento de primeiro socorro afastado da área contaminada;

✓ Extintores de incêndio: devem ser colocados vários extintores de incêndio pelo laboratório, o mais afastado possível um do outro, e com acesso fácil. É preferível 2 extintores com 4 kg de CO₂ em lugar de 1 com 6 kg (isso facilita o transporte).

A climatização de um laboratório é um item que varia de acordo com o tipo de estudo que é realizado. A necessidade de climatização desses diferentes tipos de laboratórios variará desde o fornecimento de um simples conforto até a eliminação de vapores tóxicos. O laboratório será beneficiado pelo sistema de climatização que controla a temperatura, umidade, e concentração de substâncias no local.

No caso dos laboratórios que fazem parte da plataforma para estudos toxicológicos proposta, será necessária climatização especial, pois as salas de estudo, o biotério e a área de preparação da dosagem precisarão ser áreas limpas.

A necessidade de uma sala limpa deve-se ao fato de a sala precisar de temperatura estável, controle de umidade e garantia da qualidade do ar. O sistema de filtragem dessas salas é especial e realizado por meio de filtros finos do tipo HEPA (absoluto), que garantem uma melhor qualidade do ar. Existe ainda diferença de pressão (cascatas de pressão) entre a sala e os corredores para que o ar não passe de um ambiente para outro.

As cabines de segurança biológica devem ser projetadas de forma a não contaminar o que está sendo manipulado (o material manipulado não é tóxico) ou de forma a não contaminar o manipulador (no caso do material manipulado ser tóxico). Além disso, o ar que sai das cabines de segurança biológica deve ser tratado para que o ambiente não seja prejudicado. As instalações das cabines devem ficar convenientemente situadas para assegurar que operações perigosas não sejam desenvolvidas em bancadas abertas. As capelas devem estar providas com os serviços usuais (gás, eletricidade, água, vácuo, ar comprimido) operáveis do lado externo.

Deve-se ainda prever as instalações de eletricidade, água, gás, vácuo e ar comprimido, de acordo com as necessidades do laboratório e dos equipamentos a serem utilizados.

5.3.1.2. Disposição das salas

A toxicocinética é a farmacocinética da toxicologia. Em geral é realizada junto com ensaios de toxicologia de doses repetidas e visa a evidenciar se os compostos, administrados em uso prolongado, estão acumulando no plasma ou em órgãos específicos como tentativa de identificar/confirmar órgãos alvo de efeitos tóxicos.

Estudos de farmacocinética podem ser realizados após uma única administração do composto e busca determinar as etapas que a substância sofre desde a administração até a sua eliminação, que são: absorção, distribuição, biotransformação e excreção.

A sala de coleta deve ficar longe do biotério, pois o cheiro do sangue faz com que os animais fiquem estressados.

A sala onde são manuseadas bactérias (mutação reversa) deve ser uma sala separada das demais, pois pode haver contaminação cruzada.

Deve haver uma área quente, onde ficam situadas as capelas, estufas, mantas de aquecimento, maçaricos e bicos de Bunsen, e o técnico deve ficar o menor tempo possível nessa área, pois o perigo de explosões e incêndios é muito grande.

A área de armazenagem deve estar afastada da parte operacional do laboratório, evitando-se contato freqüente dos técnicos com substâncias puras e possíveis intoxicações.

O local onde são guardados os documentos dos estudos deve ter temperatura e umidade controladas, bem como possuir proteção contra incêndio.

5.3.1.3. Infraestrutura básica

São necessárias salas limpas para realização dos Testes de Farmacocinética, Testes de Toxicidade Aguda e de Dose Repetida, coleta de sangue, biotério de experimentação e farmácia.

Além disso, são necessárias salas climatizadas para teste de mutação reversa em bactérias, teste de micronúcleo, teste de aberração cromossômica com células de medula óssea, histologia, patologia, esterilização, paramentação.

Deve haver local para lavagem de materiais, para descarte de resíduos tóxicos, para funcionamento dos escritórios;

Os locais para arquivo documental (dados brutos, relatórios etc), para as amostras dos compostos em análise, para as lâminas preparadas na histologia devem ser separados.

Os principais equipamentos são os seguintes:

Ar condicionado com controle de temperatura e umidade, geladeira, freezer, cabine de segurança biológica, evaporador de solvente, purificador de água do tipo Millipore, destilador, estufa, banho seco, banho maria, contador de colônias, centrífuga de eppendorf e de tubos, espectrofotômetro, incubadora de CO₂, microscópio invertido, microscópio comum com captura de imagem, HPLC acoplado a um espectrômetro de massa (MsMs), analisador bioquímico automático (Cobas), hematocitômetro, micrótomo, balança analítica e semi-analítica, *rack* com microisoladores, estação de troca, controladores de luz, autoclave de barreira, lavadora de gaiolas e de mamadeiras, computadores, mobiliário, estantes deslizantes, projetor, equipamento de videoconferência.

5.3.1.4. Animais

Neste trabalho, os animais estão sendo considerados como infraestrutura para se por em prática os conhecimentos, já que sem animais de qualidade nenhum estudo pré-clínico pode ser realizado. Como o animal utilizado no estudo deve ser SPF (Specific Pathogen Free, Livre de Patógenos Específicos), ele não pode ser contaminado ao sair do biotério. Sendo assim, as salas devem ser igualmente limpas.

Para que se mantenha o animal e a área onde ele é criado limpos, é mais indicado o uso de racks com microisoladores onde o insuflamento e a exaustão do ar são realizados em cada gaiola isoladamente. Mesmo que uma gaiola esteja contaminada, ela é facilmente removida e limpa sem que contamine as outras.

Em relação ao fornecimento dos animais para pesquisa, é necessário que o fornecedor entregue juntamente com os animais um certificado de status sanitário, demonstrando que o animal está saudável.

Como em todos os outros fornecedores é imprescindível que seja feita uma auditoria no fornecedor de animais de forma a credenciá-lo, já que ele também deve seguir as normas das Boas Práticas, sejam elas de Fabricação, Laboratório ou Clínicas.

Apenas se o fornecedor for auditado e certificado, seus animais poderão ser utilizados para os testes toxicológicos previstos nesta plataforma.

5.3.2. Recursos humanos

De forma geral, as categorias de profissionais necessárias à plataforma foram listadas no Quadro 9. No entanto, nesta seção estão indicados os conhecimentos que esses profissionais precisam ter para poderem realizar o trabalho de forma eficiente.

Os profissionais de nível superior com doutorado em toxicologia ou patologia, com experiência na área levam tempo para que sejam treinados e adquiram experiência na área. São, portanto, profissionais raros e pouco disponíveis no mercado de trabalho. Além disso, dependendo da especificidade do estudo é necessário um especialista da área de cardiologia ou oncologia, por exemplo.

Na plataforma proposta, são necessários profissionais de nível superior em farmácia bioquímica, medicina veterinária, com treinamento em mutagênese e carcinogênese, com treinamento em coleta de sangue, com doutorado em toxicologia, e em patologia. Além disso, são necessários técnicos para realização dos experimentos, para cuidar do biotério, para esterilização dos objetos, para cuidar dos arquivos.

As BPL requerem ainda que haja um Diretor do Estudo, um Gerente da Instalação e uma equipe responsável pela Garantia da Qualidade.

A quantidade desses profissionais variará de acordo com a quantidade de experimentos realizados na instalação em questão. A possibilidade de se obter lucro realizando ensaios pré-clínicos toxicológicos, no entanto, só é real na medida em que se tem uma grande quantidade de estudos sendo realizados no mesmo laboratório. Isso porque o custo fixo é bastante alto, já que os profissionais são especializados e, portanto, caros.

É por meio dos processos de aprendizagem que a organização desenvolve as competências essenciais à realização de sua estratégia de negócios (Fleury & Fleury, 2001). Sendo assim, conforme falado anteriormente, todo o pessoal envolvido em uma instalação que realize testes toxicológicos acreditados deve ser treinado com alguma frequência. Isso faz com que o conhecimento teórico fique sedimentado de forma a se tornar automático. Esse treinamento continuado exige tempo e recursos, sendo interessante manter esse profissional fiel à organização por um longo período de tempo.

5.3.3. Estratégia de Implementação da Plataforma na Fiocruz

A estruturação inicial da plataforma prevê os seis testes já indicados anteriormente, uma vez que representam aqueles comuns a todas classes farmacêuticas e que são necessários para que uma substância possa passar à fase clínica. Além disso, pretende-se que os laboratórios em questão prestem serviço para outras instituições públicas, universidades ou empresas.

Na pesquisa inicial, foram encontrados apenas dois laboratórios que realizam testes toxicológicos pré-clínicos dentro da Fiocruz localizados na Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP) e no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS). Os testes realizados são testes bioquímicos, testes de mutagenicidade, testes de genotoxicidade, testes de toxicidade reprodutiva e testes eco-toxicológicos. No INCQS são realizados testes de contra-prova e, devido a isto, essa unidade não pode realizar os testes toxicológicos sob a forma de prestação de serviços comerciais. Na ENSP, dentre os testes propostos para a plataforma, são realizados Teste de Mutação Reversa em Bactérias e Teste de Aberração Cromossômica em Células de Medula Óssea de Camundongos. Entretanto, atualmente, é uma atividade voltada essencialmente para pesquisa, e por este motivo, neste formato, não poderia fazer parte da plataforma, pois a prestação de serviços exige que os testes sejam realizados como rotina e em larga escala.

Conforme verificado com cada um dos laboratórios que utilizam animais para experimentação, a Fiocruz conta com poucos profissionais que realizam testes toxicológicos. Sendo assim, poder-se-ia utilizar alguma expertise da Fiocruz, mas seria necessário contratar consultores técnicos.

Em princípio, o Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde (CDTS) seria uma boa opção para a instalação da plataforma, já que surge dentro de um cenário nacional que se mostra carente de inovação em saúde pública e investimento em políticas que visem ao desenvolvimento tecnológico. O CDTS tem como missão ser um centro de articulação de inteligência visando à inovação no desenvolvimento de produtos e processos para o Sistema de Saúde. Pretende ser um centro tecnológico de referência em inovação e gestão em saúde capaz de desenvolver produtos e processos, bem como promover a translação e a articulação de projetos e alianças estratégicas

nacionais e internacionais. Assim, a Fiocruz terá um setor especializado na tradução de conhecimento em produtos em particular biomoléculas necessárias para o desenvolvimento e produção de vacinas, biofármacos e reativos para diagnósticos de importância em saúde pública, contribuindo para diminuir o hiato ou gargalo nesta área.

Na estrutura do CDTS estão previstos a criação de laboratórios de apoio, laboratórios flexíveis, áreas de experimentação animal e gestão tecnológica e administração, além de plataformas tecnológicas. Estão previstas plataformas de genômica, proteômica, bioinformática, PCR em tempo real, citometria de fluxo, *screening* e toxicologia automatizada.

A atuação do CDTS em farmacologia pré-clínica e toxicologia será inicialmente em doenças negligenciadas com ênfase na etapa de descoberta, com a plataforma de *screening* e toxicologia automatizada atuando em sinergia com as plataformas de genômica, proteômica e análises físico-químicas. Pretende-se atuar na identificação de alvos moleculares, desenvolvimento de ensaios enzimáticos e otimização de insumos, desenvolvimento de ensaios celulares e a triagem de moléculas ativas, toxicologia e metabolismo *in vitro* e prova de conceito.

Ainda com a finalidade de garantir a rastreabilidade e a confiabilidade dos resultados obtidos através destes ensaios e estar alinhado aos preceitos já disseminados globalmente, o CDTS tem em seu escopo a implantação de um Sistema de Gestão da Qualidade. Dessa forma, estão previstas no CDTS a adoção de normas de gestão da qualidade de modo a garantir a qualidade técnica dos ensaios desenvolvidos, atendendo assim às legislações vigentes nacionalmente e internacionalmente no que tange aos estudos pré-clínicos preconizados para o registro de produtos.

Então, a plataforma proposta poderia ser incluída no contexto da toxicologia automatizada, já que lá estão incluídos dois dos seis testes propostos (teste de mutação reversa em bactérias e teste de micronúcleo). Faltaria acrescentar os quatro testes *in vivo* propostos neste trabalho.

Para que se tenha uma visão melhor do panorama dos testes toxicológicos na Fiocruz, foi elaborado o Quadro 4, abaixo:

Quadro 4: Panorama dos ensaios toxicológicos na Fundação Oswaldo Cruz

Unidade	Testes Oferecidos	Testes que podem integrar a	Testes que faltam para complementar a	Pontos Fortes	Pontos Fracos
----------------	--------------------------	------------------------------------	--	----------------------	----------------------

		plataforma	plataforma		
INCQS	Testes de genotoxicidade	Aberração cromossômica <i>in vivo</i> , Micronúcleo <i>in vitro</i>		Expertise	Por ser laboratório de contra-prova, não pode prestar serviço
ENSP	Testes bioquímicos, testes de mutagenicidade, testes de genotoxicidade, testes de toxicidade reprodutiva e testes ecotoxicológicos	Teste de mutação reversa em bactérias <i>in vitro</i> , Aberração cromossômica <i>in vivo</i>	Teste de toxicologia aguda <i>in vivo</i> , teste de toxicologia de dose repetida <i>in vivo</i> e testes farmacocinéticos <i>in vivo</i>	Expertise	Por ser laboratório de pesquisa, não realiza testes em escala
CDTS		Teste de mutação reversa em bactérias <i>in vitro</i> , Teste de micronúcleo <i>in vitro</i>		Expertise, sistema de gestão da qualidade	Ainda em construção

5.3.4. Ações de Curto, Médio e Longo Prazo

Considerando o curto prazo um período de 2-3 anos, o médio prazo um período de 3-6 anos e o longo prazo 7-15 anos, pode-se dizer que qualquer ação no sentido de montar a instalação será de médio/longo prazo, já que um dos especialistas consultados afirmou que acredita que a Anvisa leve aproximadamente cinco anos para regularizar sua legislação para estudos pré-clínicos toxicológicos.

As ações propostas são as seguintes:

- Participar ativamente de grupos de discussão para nortear a decisão da Anvisa, para que se decida qual a legislação que será adotada para ensaios pré-clínicos toxicológicos no Brasil. Buscando, com isso, aprimorar a legislação já existente;
- Definir o local onde serão construídas ou adaptadas as instalações prediais para funcionamento da plataforma;
- Contratar consultores técnicos, de forma a minimizar os riscos do investimento;
- Captar recursos disponíveis em órgãos financiadores como Finep, BNDES;
- Elaborar os passos indicados no Anexo VI, de forma a implementar as BPL;
- Consolidar parcerias dos laboratórios fornecedores de matérias-primas com a plataforma, de forma a manter a qualidade dos produtos utilizados;
- Atuar de forma que as compras governamentais não levem somente em consideração o menor preço, mas sim a qualidade do produto, em razão dos riscos de se trabalhar com produtos de origem muitas vezes desconhecida;
- Fomentar uma criação de animais de experimentação certificados – Biotérios de Produção, de preferência o CECAL;
- Estabelecer um programa de avaliação de conformidade dos biotérios, harmonizado com os padrões internacionais exigidos para esta área;
- Definir políticas de fixação de recursos humanos na plataforma de testes toxicológicos pré-clínicos, de forma que não haja grande rotatividade de pessoal;
- Incentivar a formação e capacitação de recursos humanos para atender aos postos de trabalho da plataforma;
- Oferecer na Fiocruz curso de especialização em patologia e toxicologia;
- Incentivar a parceria entre as pós-graduações e as empresas buscando desenvolver em conjunto, dissertações e teses, projetos de pesquisa e de desenvolvimento tecnológico de interesse do setor produtivo;
- Organizar missões de prospecção e benchmarking a países desenvolvidos na área de ensaios pré-clínicos, que apresentem importante histórico de programas de desenvolvimento do setor;
- Organizar e patrocinar eventos e seminários no Brasil, com especialistas internacionais em programas e políticas para o desenvolvimento dos ensaios pré-clínicos.

6. CONCLUSÃO

Um ensaio pré-clínico toxicológico deve ser realizado de forma padronizada, sob as condições das Boas Práticas de Laboratório, de forma a garantir sua rastreabilidade e sua aceitação em âmbito internacional.

Para isso, é necessário que tudo seja bem organizado, registrado e arquivado. Não pode faltar material, os equipamentos precisam estar funcionando adequadamente, as pessoas têm que ser treinadas com frequência. Ou seja, tudo deve funcionar como uma engrenagem regulada, todos trabalhando para um fim, ou seja, para o resultado confiável do estudo.

Há algumas questões impeditivas nesse sentido. No Brasil, ainda não se pode realizar esse tipo de teste de forma acreditada. Existe a possibilidade de ser até realizado de forma padronizada, mas ele não será aceito internacionalmente pois a Anvisa ainda não definiu qual a legislação a ser adotada pelos laboratórios de ensaios toxicológicos. Além disso, o país dispõe de poucos animais de qualidade, o que põe qualquer resultado obtido em dúvida. A quantidade de animais SPF produzidas no país não é suficiente para atender à demanda interna. E é melhor não fazer o estudo do que fazê-lo com animais de baixa qualidade.

Outra questão de gestão específica do serviço público que impediria o bom funcionamento de um laboratório sob as leis das BPL é a questão das compras. O tempo que leva entre o pedido de um material e sua chegada ao laboratório pode ser de um ano, o que faz com que qualquer pesquisa precise ser interrompida. Em um laboratório que preste serviços não só internos como externos, isso está fora de cogitação.

Em relação aos testes pré-clínicos, o Brasil ainda está em fase de desenvolvimento e são poucas as publicações nessa área. Após esta pesquisa, verificou-se que ainda há muito a se fazer para que se possa ter um laboratório de testes pré-clínicos toxicológicos montado, prestador de serviços e confiável. Além do fato de o órgão regulador dos medicamentos no país ainda demorar alguns anos para decidir qual a legislação a ser adotada.

No entanto, uma vez definida a legislação, as ações de estabelecimento de laboratórios de ensaios pré-clínicos toxicológicos é uma questão de tempo e de esforço

de adequação das competências já existentes no país e do desenvolvimento de outras não tão desenvolvidas.

Uma vez que os pontos críticos são a disponibilidade de recursos humanos e a produção de animais saudáveis, o ideal é que se inicie agora a formação de profissionais capacitados, bem como a produção de animais de qualidade, de forma a adquirir as competências necessárias para que se possa seguir a legislação vigente, seja ela qual for.

No que concerne a Fiocruz, o CDTS é particularmente interessante por ter entre suas áreas contempladas as plataformas de pesquisa e desenvolvimento, as plataformas de desenvolvimento tecnológico (como as de toxicologia, por exemplo), os laboratórios flexíveis que poderão ser usados em associação com o setor privado, e laboratórios de apoio. Seria, então um local apropriado para estruturação da plataforma em estudo. Além disso, a Fiocruz poderia partir de um ponto além de outras instituições, já que possui pessoal especializado e infraestrutura adequados.

REFERÊNCIAS

ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005 Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração. ABNT. Rio de Janeiro. 2005.

ALBUQUERQUE, E.; CASSIOLATO, J.E. As especificidades do sistema de inovação do setor saúde. FeSBE, São Paulo. 2000 (Estudos FeSBE I).

BAETAS,R., QUENTAL, C.,BOMTEMPO, J.V. Modelo para análise estratégica de indústrias baseadas em ciência. RAE. **Revista de Administração de Empresas**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 80-91, 2004.

BARTLETT, C.; GHOSHAL, S. Going Global: Lessons from Late Movers. **Harvard Business Review**, v. 78, n. 2, p. 132-142, mar./apr. 2000.

De ANGELIS, C.D. et al. Clinical trial registration: a statement from the International Committee of Medical Journal Editors. **Journal of the American Medical Association**. n. 292, p. 1363-1364, 2004.

BRASIL, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Guia para a Condução de Estudos Não-clínicos de Segurança Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos**, Brasília, DF, março de 2010.

BRASIL, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Instrução Normativa 06**, Brasília, DF, 18 de abril de 2007.

BRASIL, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Instrução Resolução RDC número 136**, Brasília, DF, 29 de maio de 2003.

BRASIL, FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, **Plano Quadrienal**, 2011-2016.

BRASIL, PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA, Decreto Nº 6.041, Política de Desenvolvimento de Biotecnologia, 8 DE FEVEREIRO DE 2007.

DICKSON, M and GAGNON, J.P. Key Factors in the Rising Cost of New Drug Discovery and Development. **Drug Discovery**. v. 3, 2004.

DIMASI, J.A; HANSEN, R.W.; GRABOWSKI, H.G.. The Price of innovation: new estimates of drug development costs. **Journal of Health Economics**. v. 22, p.151-185, 2003.

EASTER, A., BELL, M.E., DAMEWOOD, J.R., REDFERN, W.S., VALENTIN, J.P., WINTER, M.J., FONCK, C. and BIALECKI, R.A. Approaches to Seizure Risk Assessment in Preclinical Drug Discovery. **Drug Discovery Today**. v. 14, n. 17/18, p. 876-884, 2009.

ERDHART, P. In HACKER, M., BACHMANN, K., MESSER, W. **Pharmacology: principles and practice**. Elsevier, Inc. 2009. USA (Capítulo 19)

FLEURY, M.T.L. & FLEURY, A. Construindo o Conceito de Competência. **Revista de**

Administração Contemporânea, Ed. Especial, 183-196, 2001.

FREEMAN, C, 1995. The “National System of Innovation” in historical perspective”. **Cambridge Journal of Economics**, 19(1): 05-24, 1995.

FURA, A. Role of Pharmacologically Active Metabolites in Drug Discovery and Development. **Drug Discovery Today**. v. 11, n. 3/4, p. 133-142, 2006.

GAD, S.C. **Preclinical Development Handbook: Toxicology**. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2008.

GADELHA, C. A. G. . Desenvolvimento, Complexo Industrial da Saúde e Política Industrial. **Revista de Saúde Pública / Journal of Public Health**, São Paulo, v. 40, n. Especial, p. 11-23, 2006.)

GADELHA, C. A. G. *et al.* Sistema Produtivo Complexo Industrial da Saúde. **Projeto PIB: Perspectiva do Investimento no Brasil**. Rio de Janeiro: IE-UFRJ/IE-Unicamp – BNDES, 2009.

HENRIQUES, M.G., SIANI, A.C., GUILHERMINO, J.F., PINHEIRO, E. Plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos no combate a doenças negligenciadas: Uma alternativa viável . **Revista Fitos**. São Paulo - Brasil, v.1, p.30 - 36, 2005.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Stability Testing of New Drug Substances and Products**, Q1A(R2), 2003.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products**, Q1B, 1996.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Stability Testing for New Dosage Forms** (Annex to the ICH Harmonised Tripartite Guideline on Stability Testing for New Drugs and Products), Q1C, 1996.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Bracketing and Matrixing Designs for Stability Testing of New Drug Substances and Products**, Q1D, 2002.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Impurities in New Drug Substances**, Q3A(R2), 2006.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF

PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Impurities in New Drug Products**, Q3B(R2), 2006.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Impurities: Guideline for Residual Solvents**, Q3C(R5), 2011.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin**, Q5A(R1), 1999.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Quality of Biotechnological Products: Analysis of the Expression Construct in Cells Used for Production of R-DNA Derived Protein Products**, Q5B, 1995

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products**, Q5C, 1995

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products**, Q5D, 1997

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Comparability of Biotechnological/Biological Products Subject to Changes in their Manufacturing Process**, Q5E, 2004.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances**, Q6A, 1999.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products**, Q6B, 1999.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL

REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Quality Guideline, **Pharmaceutical Development**, Q8(R2), 2009.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Efficacy Guideline, **Dose-Response Information to Support Drug Registration**, E4, 1994.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Efficacy Guideline, **Definitions for Genomic Biomarkers, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genomic Data and Sample Coding Categories**, E15, 2007.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Efficacy Guideline, **Biomarkers Related to Drug or Biotechnology Product Development: Context, Structure and Format of Qualification Submissions**, E16, 2010.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Safety Guideline, **Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals**, S1A, 1995.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Safety Guideline, **Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals**, S1B, 1997.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Safety Guideline, **Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals**, S1C(R2), 2008.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Safety Guideline, **Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use**, S2(R1), 2008.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Safety Guideline, **Note for Guidance on Toxicokinetics: the Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies**, S3A, 1994.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Safety Guideline, **Pharmacokinetics: Guidance for Repeated Dose Tissue Distribution Studies**, S3B, 1994.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Safety Guideline, **Duration of Chronic Toxicity Testing in Animals (Rodent and Non Rodent Toxicity Testing)**, S4, 1998.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Safety Guideline, **Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products & Toxicity to Male Fertility**, S5(R2), 2005.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Safety Guideline, **Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals**, S6(R1), 1997.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Safety Guideline, **The Non-clinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals**, S7B, 2005.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Safety Guideline, **Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals**, S9, 2009.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Multidisciplinary Guideline, **Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals**, M3(R2), 2009.

KERNS, E.H., DI, L. **Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods from ADME to Toxicity Optimization**. Elsevier, Inc, USA, 2008.

KOH, H.L., YAU, W.P., ONG, P.S. and HEGDE, A. Current Trends in Modern Pharmaceutical Analysis for Drug Discovery, **Drug Discovery Today**, v. 8, n. 19, p. 889-897, 2003.

KREGER, J., FELDMAN, N. **From Mice to Men: a preclinical outsourcing market update**. Chicago: William Blair & Company, 2004.

LIM, L.P.L., GARNSEY, E. & GREGORY, M. Product and Process Innovation in Biopharmaceuticals: a new perspective on development. **R&D Management**. n. 36, v. 1, p. 27-36, 2006.

MEDRONHO, R.A. **Epidemiologia**. Câmara Brasileira do Livro. SP, Brasil, p. 153, 2003.

MERLOT, C. Computational Toxicology – a tool for early safety evaluation. **Drug Discovery Today**. v. 15, n. 1/2, p 16-22, 2010.

MUSTER, W. et AL. Computational Toxicology in drug development. **Drug Discover Today**. v. 13, n. 7/8, p. 303-310, 2008.

OLEJNICZAK, K., GÜNZEL, P., BASS, R. Preclinical Testing Strategies. **Drug Information Journal**. v. 35, p. 321-336, 2001.

ORGANIZATION FOR COOPERATION AND ECONOMIC DEVELOPMENT GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, **Bacterial Reverse Mutation Test**, n. 471, 1997.

ORGANIZATION FOR COOPERATION AND ECONOMIC DEVELOPMENT GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, **In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test**, n. 487, 2010.

ORGANIZATION FOR COOPERATION AND ECONOMIC DEVELOPMENT GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, **Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test**, Number 475, 1997.

ORGANIZATION FOR COOPERATION AND ECONOMIC DEVELOPMENT GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, **Toxicokinetics**, n. 417, 2010.

ORGANIZATION FOR COOPERATION AND ECONOMIC DEVELOPMENT GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, **Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure**, n. 420, 2001

ORGANIZATION FOR COOPERATION AND ECONOMIC DEVELOPMENT GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, **Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method**, n. 423, 2001.

ORGANIZATION FOR COOPERATION AND ECONOMIC DEVELOPMENT GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, **Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP)**, 425, 2008.

ORGANIZATION FOR COOPERATION AND ECONOMIC DEVELOPMENT GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, **Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents**, 408, 1998.

ORGANIZAÇÃO PARA A COOPERAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO. **Manual de Oslo: Diretrizes para a coleta e interpretação de dados sobre inovação**. 3. Ed. Paris: OCDE, 2005.

PAREXEL. **Parexel's Pharmaceutical R&D Statistical Sourcebook 2007/2008**. Waltham, MA: Parexel International Corporation, 2005.

PIERONI, João Paulo ; CAPANEMA, L. X. L. ; REIS, C. ; BARROS DE SOUZA, J. O ; SILVA, L. G . Terceirização da P&D de Medicamentos: Panorama do Setor de Testes Pré-Clinicos no Brasil. **BNDES Setorial**, v. 29, p. 131-157, 2009.

QUENTAL, C. **Infraestrutura Científica e Tecnológica para Apoio ao CEIS – Segmento Biofarmacêutico**. Pesquisa realizada pela Escola Nacional de Saúde Pública, 2010.

QUENTAL, C.; SALLES-FILHO, S. Ensaio clínico: capacitação nacional para avaliação de medicamentos e vacinas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v.9, n. 4, 2006.

SALINER, A.G., PATLEWICZ, G., WORTH, A.P. A Similarity Based Approach for Chemical Category Classification. **European Commission**, 2005.

STEINMETZ, K.L., SPACK, E.G. The basics of preclinical drug development for neurodegenerative disease indications. **BMC Neurology**, 2009, 9 (Suppl 1): S2doi:10.1186/1471-2377-9-S1-S2.

TEIXEIRA, M.O., MACHADO, C.J.S., FILIPECKI, A.T.P. **O Uso de Plataformas Tecnológicas e as Mudanças no Modo de Organização da Produção de Conhecimento na Área de Biomedicina**. VIII Jornada ESOCITE “Ciencia y Tecnologia para la Inclusión Social”, 2006.

VIEIRA, V.M.M., OHAYON, P. Inovação em fármacos e medicamentos: estado-da-arte no Brasil e políticas de P&D, **E&G**, v. 06, n.13, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, Handbook: Good Laboratory Practice (GLP): Quality Practices for Regulated Non-clinical Research and Development, 2nd. Ed, 2009.

ANEXO I

RESUMO DOS ESTUDOS PROPOSTOS NO GUIA PARA CONDUÇÃO DE ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS DE SEGURANÇA NECESSÁRIOS AO DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

Estudos de Toxicidade de Dose Única (Aguda)
Avaliam a toxicidade produzida por uma substância quando esta é administrada em uma ou mais doses durante um período não superior a 24 horas, seguido de observação dos animais por 14 dias após a administração.
Estudos de Toxicidade de Doses Repetidas
Caracterizam o perfil toxicológico da substância pela administração repetida. A partir desses estudos, é possível a obtenção de informações sobre os efeitos tóxicos, identificação de órgãos alvo, efeitos nas funções fisiológicas, hematológicas, bioquímicas, anatomo e histopatológicas, além de informações sobre a indicação de nível de efeito não-observado e nível de efeito adverso não-observado.
Estudos de Toxicidade Reprodutiva (incluem estudos de fertilidade e desenvolvimento embrionário inicial, de desenvolvimento pré e pós-natal, incluindo função materna, de desenvolvimento embrio-fetal).
Revelam algum efeito de uma ou mais substâncias ativas na reprodução de mamíferos. Por este propósito, investigações e interpretações dos resultados devem ser relacionadas com outros dados farmacológicos e toxicológicos disponíveis, para determinar situações em que riscos potenciais para a reprodução humana são maiores, menores ou iguais àqueles relativos a outras manifestações toxicológicas.
Estudos de Genotoxicidade
Consistem em testes <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> desenhados para detectar o potencial das substâncias sob investigação de causar mutações genéticas e cromossômicas.
Estudos de Tolerância Local (inclui os testes de tolerância no local de administração, de toxicidade sistêmica, de tolerância para vias específicas de administração, de potencial de sensibilidade)
A avaliação de tolerância local deve ser realizada em testes de laboratório antes da exposição humana ao produto. O objetivo destes estudos é saber se os medicamentos (substâncias ativas e excipientes) são tolerados em locais do corpo que poderão entrar em contato com o produto em consequência da sua administração na prática clínica. Os

<p>testes deverão avaliar quaisquer efeitos mecânicos da administração ou ações meramente físico-químicas do produto que podem ser distinguidas de efeitos toxicológicos ou farmacodinâmicos.</p>
<p>Estudos de Carcinogenicidade (esses estudos devem contemplar principalmente avaliações nas seguintes fases: máxima dose tolerada, dose-limite de efeitos farmacodinâmicos, saturação de absorção, máxima dose disponível, mudanças celulares, avaliações bioquímicas)</p>
<p>Identificam as substâncias que possam causar um desenvolvimento de câncer em algum local por algum mecanismo, observando testes animais para o desenvolvimento de lesões como consequência da exposição, durante um tempo considerável de sua vida, por várias doses da substância teste e por uma via de administração apropriada. Em relação à duração e exposição, os estudos de carcinogenicidade devem ser realizados para medicamentos cujo uso clínico esperado se dê de forma contínua por no mínimo seis meses. Certas classes medicamentosas podem não ser usadas continuamente acima de um mínimo de seis meses, mas podem ser propostas para serem utilizadas repetidamente ou intermitentemente no tratamento crônico ou condições recorrentes (por exemplo: medicamentos para rinite alérgica, depressão e ansiedade). Nesses casos os estudos de carcinogenicidade são geralmente também necessários. Para medicamentos administrados de forma não freqüente por curta duração de exposição, em princípio, não são necessários estudos de carcinogenicidade. Porém, estudos de carcinogenicidade devem ser realizados para qualquer substância em que seu potencial carcinogênico seja previamente conhecido.</p>
<p>Estudos de Interesse para Avaliação de Segurança Farmacológica (incluem estudos para avaliação de toxicidade da substância no sistema nervoso central, no sistema respiratório, no sistema cardíaco)</p>
<p>Pesquisam os potenciais efeitos farmacodinâmicos indesejáveis da substância teste nas funções fisiológicas dos diversos sistemas orgânicos em relação ao nível de exposição. A partir desses estudos são avaliadas funções vitais desenvolvidas pelos sistemas: nervoso central, cardíaco e respiratório. Quando necessário, deve-se também avaliar o sistema renal, nervoso autônomo, gastrintestinal e ainda função endócrina, imune e os músculos esqueléticos.</p>
<p>Estudos de Toxicocinética</p>
<p>A toxicocinética tem como objetivo primário a descrição da exposição sistêmica obtida em animais e a sua relação com o nível de dose e o tempo. Como objetivos secundários</p>

podem-se considerar:

relato da exposição obtida em estudos de toxicidade para achados toxicológicos / contribuição para a avaliação da relevância desses achados para a segurança clínica, suporte à escolha de espécies e regimes de tratamento em estudos de toxicidade não clínica e o fornecimento de informações que em conjunto com achados toxicológicos contribuam para o desenho de estudos não clínicos de toxicidade subsequentes.

Fonte: Elaborado com base no Guia para a Condução de Estudos Não-clínicos de Segurança Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos, ANVISA, 2010

ANEXO II

DIRETRIZES DA INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION PARA ESTUDOS

Diretrizes relacionadas à Eficácia do Novo Fármaco			
Referência	Título	Conteúdo	
E4	Informações sobre resposta de dose para embasamento do registro de substâncias	Apresenta as recomendações sobre o desenho e a condução de forma a avaliar a relação entre as doses, níveis sanguíneos clínicos ao longo do desenvolvimento clínico de uma nova	
E15	Definição de biomarcadores para genômica, farmacogenômica, farmacogenética, dados para genômica e categorias de codificação de amostragem.	Contém a definição dos termos chave no âmbito da farmacogenética, nomeados biomarcadores genômicos, farmacogenômicos e farmacogenéticos, categorias de codificação de amostras. A validação e os processos para biomarcadores para genômica, evidência de intenção de uso e aceitação de critérios pelas regiões pelo ICH estão fora do escopo dessa diretriz.	
E16	Biomarcadores Genômicos relacionados à resposta de substâncias: contexto, estrutura e formato dos requerimentos de	Descreve as recomendações em relação ao contexto e formato dos formulários para qualificação dos biomarcadores genômicos, conforme descrito no ICH E15.	

	qualificação		
Diretrizes relacionadas à Segurança do Novo Fármaco			
S1A	Necessidade de estudos de carcinogenicidade de medicamentos	Fornece uma definição consistente das circunstâncias sob as quais é necessária a realização de estudos de carcinogenicidade. Essas diretrizes levam em consideração os fatores de risco conhecidos, bem como as circunstâncias pretendidas e a duração da exposição.	
S1B	Testes de carcinogenicidade de medicamentos	Fornece diretriz sobre a necessidade de condução de estudos de carcinogenicidade tanto em camundongos quanto em ratos, e é fornecida também diretrizes de procedimentos de realização de testes, que podem ser aplicados se necessário para a segurança.	
S1C (R2)	Estabelecimento de dose para estudos carcinogênicos em medicamentos	Estabelece o critério de seleção de alta dose a ser utilizada e fornece diretrizes de carcinogenicidade em novos agentes terapêuticos de forma a harmonizar as práticas correntes e melhorar o desenho dos estudos.	
S2(R1)	Diretriz para teste de genotoxicidade e interpretação de dados para medicamentos que se pretende utilizar em humanos	Possui dois documentos relacionados: a) Guia em Aspectos Específicos de Genotoxicidade Regulatória para Produtos Farmacêuticos, que contém diretrizes específicas e recomendações para testes <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para a avaliação de genotoxicidade – inclui um glossário de termos relacionados a genotoxicidade para melhorar a consistência nas solicitações; b) Guia de uma bateria de testes padrão de genotoxicidade para produtos farmacêuticos, direcionado a duas áreas fundamentais de testes de genotoxicidade: testes de	

		de um conjunto de testes padrão que devem ser conduzidos par extensão da experimentação confirmatória em qualquer teste de gen- bateria de testes padrão.	
S3A	Nota para diretriz de toxicocinética: a avaliação da exposição sistemática em estudos de toxicidade	Fornece diretrizes para desenvolvimento de estratégia de testes em t a necessidade de integrar a farmacocinética nos testes de toxicidad auxiliar na interpretação de achados toxicológicos e promover desen- desenho de estudo racional.	
S3B	Farmacocinética: diretriz para estudos de dose repetida em distribuição nos tecidos	Fornece diretrizes em circunstâncias nas quais deve ser considerac dose repetida na distribuição nos tecidos (ou seja, quando dados ap- puderem ser obtidos de outras fontes). Além disso, dá recomendaçõ conduzir esses estudos.	
S4A	Duração dos testes de toxicidade crônica em animais (testes de toxicidade em roedores e em não-roedores)	Incorpora a diretriz para testes de toxicidade de dose repetida, que j da duração dos estudos de toxicidade de dose repetida em ratos meses.	
S5(R2)	Deteção de toxicidade para reprodução para produtos medicinais e toxicidade para fertilidade masculina	Define os períodos de tratamento a serem utilizados em animais: refletir a exposição humana a produtos médicos e permitir mais específica dos estágios em risco. Suas alterações fornecem uma me- do conceito de testagem e recomendações, especialmente as r flexibilidade, duração do tratamento e observações.	
S6	Avaliação de segurança pré-	Engloba os requerimentos para testes de segurança pré-clínicos pa	

	clínica de medicamentos derivados de biotecnologia	biotecnologia. Direciona o uso de modelos animais de doença, de quando os testes de genotoxicidade e os estudos de carcinogenicidade realizados e o impacto da formação de anticorpos durante estudos to	
S6(R1)	Adendo à ICH S6: avaliação de segurança pré-clínica de medicamentos derivados de biotecnologia	Esclarece a diretriz S6 e atualiza os seguintes tópicos de discussão: espécies, desenho do estudo, imunogenicidade, toxicidade reprodutiva, desenvolvimento e avaliação de potencial carcinogênico. Auxilia na definição das recomendações atuais e diferenciação entre regiões.	
S7B	Avaliação não-clínica do potencial para repolarização ventricular retardada de medicamentos para humanos	Descreve a estratégia de ensaios não-clínicos para avaliação do potencial de repolarização ventricular retardada de substâncias teste destinada a retardar a repolarização ventricular. Fornece informações referentes a ensaios não-clínicos e avaliação de riscos in vivo.	
S9	Avaliação não-clínica de medicamentos oncológicos	Fornece informações sobre medicamentos que pretendem apenas tratar pacientes em estágio avançado da doença, sem levar em consideração a administração, incluindo tanto medicamentos de moléculas pequenas quanto derivados biotecnológicos. Descreve o tipo e a regulação dos estudos em relação ao desenvolvimento de medicamentos anticâncer.	
Diretrizes relacionadas à Eficácia do Novo Fármaco			
Q1A (R2)	Teste de estabilidade de novas substâncias e produtos	Fornece recomendações sobre os protocolos de testes de estabilidade, incluindo temperatura, umidade e duração do ensaio. Especificações de teste de estabilidade nas zonas climáticas.	

		forma a minimizar as diferenças de condições de armazenamen	
Q1B	Teste de estabilidade: teste de fotoestabilidade de novas substâncias e produtos	Dá a diretriz do protocolo de teste básico necessário p sensibilidade à luz e estabilidade de novas substâncias e produt	
Q1C	Teste de estabilidade de novas formulações	É uma extensão da principal diretriz de estabilidade para nova de medicamentos já aprovados e define as circunstâncias sob de estabilidade reduzida podem ser aceitos.	
Q1D	Agrupamento e organização de desenhos para teste de estabilidade de novas substâncias e produtos	Descreve os princípios gerais para teste de estabilidade r exemplos de agrupamento e organização de desenhos.	
Q3A (R2)	Impurezas em novas substâncias	Direciona os aspectos químicos e de segurança de impureza lista de impurezas em especificações e define princípios identificação e qualificação.	
Q3B (R2)	Impurezas em novos produtos	Trata especificamente daquelas impurezas que possam ser p degradação de produtos da substância em questão ou de inte substância e excipientes ou componentes de materiais d primários.	
Q3C (R4)	Impurezas: guia de solventes residuais.	Recomenda o uso de solventes menos tóxicos na fabricação de formas de dosagem e ajusta os limites farmacêuticos de solva (impurezas voláteis orgânicas) em produtos.	
Q5A (R1)	Avaliação de segurança viral de	Fornece uma estrutura geral para experimentos com vírus para	

	produtos biotecnológicos derivados de células de origem humana ou animal.	clearance do vírus e o desenho dos testes virais e estudos de clearance.	
Q5B	Qualidade de produtos biotecnológicos: análise da construção da expressão em células utilizadas para produção de r-DNA derivados de produtos de proteínas	Esclarece sobre os tipos de informação que são consideradas na avaliação da estrutura da construção da expressão utilizada DNA recombinante derivado de proteínas.	
Q5C	Qualidade de produtos biotecnológicos: teste de estabilidade de produtos biotecnológicos/biológicos	Trata de aspectos particulares de procedimentos de testes necessários para levar em consideração características especiais nos quais os componentes ativos são normalmente polipeptídeos.	
Q5D	Derivação e caracterização de substratos de células utilizados para produção de produtos biotecnológicos/biológicos	Guia ampliado de padrões apropriados para a derivação de células animais e micróbios utilizados para o preparo de produtos biológicos e para o preparo e caracterização de bancos de células utilizados na produção.	
Q5E	Comparabilidade de produtos biotecnológicos / biológicos sujeitos a mudanças em seus processos de manufatura	Fornecer princípios para avaliação da comparabilidade biotecnológicos / biológicos antes e depois de mudanças que ocorrem no processo de fabricação da substância ou produto.	
Q6A	Especificações: procedimentos de	Direciona o processo de seleção de testes e métodos e	

	testes e critério de aceitação de novas substâncias e novos produtos: substâncias químicas	especificações para os testes da substância e formulações.	
Q6B	Especificações: procedimentos de testes e critério de aceitação para produtos biotecnológicos / biológicos	Fornecer diretrizes para justificativa e estabelecimento de especificações para proteínas e polipeptídeos que são derivados de culturas recombinantes e não-recombinantes.	
Q8 (R2)	Desenvolvimento farmacêutico	Dá diretrizes sobre desenvolvimento farmacêutico de produtos.	

ANEXO III

ÁREAS DE ESPECIALIDADE DE ESTUDO - INMETRO

Áreas de especialidade de estudo:

1. Estudos Toxicológicos

- ✓ Toxicidade Oral Aguda para ratos
- ✓ Toxicidade Oral Aguda para ratos - doses repetidas
- ✓ Toxicidade Oral Curto Prazo
- ✓ Toxicidade Oral Curto Prazo para cães
- ✓ Metabolismos e via de excreção bem como a meia vida biológica em animais de laboratório. Toxicidade dos metabólitos se forem diferentes na plantas e animais.
- ✓ Toxicidade Inalatória aguda para ratos
- ✓ Toxicidade Cutânea/ocular aguda para ratos
- ✓ Toxicidade Cutânea aguda para ratos
- ✓ Irritação Cutânea primária
- ✓ Irritação Ocular a curto prazo (coelhos)
- ✓ Potencial Embriofetotóxico
- ✓ Efeitos sobre reprodução e prole, em 2 (duas) gerações sucessivas
- ✓ Potencial Carcinogênico
- ✓ Carcinogenicidade médio prazo
- ✓ Carcinogenicidade - 2 anos
- ✓ Toxicidade / patogenicidade oral aguda
- ✓ Toxicidade / patogenicidade pulmonar aguda
- ✓ Toxicidade / patogenicidade intravenosa aguda
- ✓ Toxicidade / patogenicidade intraperitoneal
- ✓ Toxicidade / patogenicidade subcrônica
- ✓ Sensibilização dérmica
- ✓ Resposta de imunidade celular
- ✓ Patogenicidade crônica e reprodução de aves

2. Estudos de Mutagenicidade

- ✓ Potencial Genotóxico em Procariontes
- ✓ Potencial Genotóxico em Eucariontes

3. Estudos Ecotoxicológicos com Organismos Aquáticos e Terrestres

4. Estudos sobre o Comportamento em Água, Solo e Ar; Bioacumulação

5. Estudos de Resíduos

6. Estudos de Efeitos em Mesocosmos e Ecossistemas Naturais

7. Estudos de Química Analítica e Clínica

8. Estudos com Organismos Geneticamente Modificados

ANEXO IV

NORMAS DO INMETRO PARA ACREDITAÇÃO DE LABORATÓRIOS DE ENSAIO, DE ACORDO COM AS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO

DOCUMENTOS ORIENTATIVOS

DOQ-CGCRE-001	Orientações para a acreditação de laboratórios de calibração e ensaios
DOQ-CGCRE-002	Orientações para a realização de auditoria interna e análise crítica em laboratórios de calibração e de ensaio
DOQ-CGCRE-003	Orientações sobre calibração e rastreabilidade das medições em laboratórios de calibração e ensaio
DOQ-CGCRE-008	Orientação sobre a validação de métodos de ensaios químicos
DOQ-CGCRE-016	Orientações sobre a seleção e uso de materiais de referência
DOQ-CGCRE-020	Definições de termos utilizados nos documentos relacionados à acreditação de laboratórios
DOQ-CGCRE-023	Orientações para a atividade de reconhecimento da conformidade aos princípios das Boas Práticas de Laboratório

DOCUMENTOS NORMATIVOS

NIT-DICLA-011	Preços das Atividades de Acreditação de Laboratórios
NIT-DICLA-026	Requisitos sobre a participação dos laboratórios de ensaio e de calibração em atividades de ensaio de proficiência
NIT-DICLA-030	Rastreabilidade ao sistema internacional de unidades na acreditação de laboratórios
NIT-DICLA-031	Regulamento da acreditação de laboratórios
NIT-DICLA-034	Aplicação dos princípios de Boas Práticas de Laboratório aos estudos de campo
NIT-DICLA-035	Princípios das Boas Práticas de Laboratório
NIT-DICLA-036	Papel e responsabilidade do Diretor de Estudo em estudos Boas Práticas de Laboratório
NIT-DICLA-037	Aplicação dos princípios de BPL a estudos de curta duração
NIT-DICLA-038	Aplicação dos Princípios BPL aos Sistemas Informatizados
NIT-DICLA-039	O papel e responsabilidades do patrocinador na aplicação dos princípios e BPL
NIT-DICLA-040	Fornecedores e BPL
NIT-DICLA-041	Garantia da qualidade e BPL
NIT-DICLA-043	Aplicação dos Princípios de BPL à Organização e ao Gerenciamento de Estudos em Múltiplas Localidades (Multi-Site)

NIT-DICLA-044	Guia para Autoridades de Monitoramento em Boas Práticas de Laboratório - Orientação Revisada para a Condução de Inspeções de Laboratórios e Auditorias de Estudo
NIT-DICLA-045	Guia para Unidades de Monitoramento em Boas Práticas de Laboratório - Orientação para o Preparo dos Relatórios de Inspeções em Boas Práticas de Laboratório
NIT-DICLA-052	Preços do processo de reconhecimento da conformidade aos princípios das Boas Práticas de Laboratório e sistemática de cobrança
NIT-DICLA-053	Regulamento do reconhecimento da conformidade aos princípios das Boas Práticas de Laboratório
NIT-DICLA-055	Elaboração do escopo das Boas Práticas de Laboratório e da relação detalhada dos estudos conduzidos pela instalação de teste
NIE-CGCRE-009	Uso da logomarca, do símbolo e de referências à acreditação

MODELOS

MOD-CGCRE-001	Termo de Compromisso de Acreditação
MOD-CGCRE-020	Termo de Compromisso de Reconhecimento

ANEXO V
CUSTOS EXTERNOS ESTIMADOS E DURAÇÃO PARA ESTUDOS DE SEGURANÇ
REPRESENTATIVOS

Tipo de Estudo	Custos Externos Aproximados (em US)		
DOSE ÚNICA e ESCALA	<i>Ratos</i>	<i>Cachorros</i>	<i>M₃</i>
Dose única	6.000 - 25.000	20.000 - 50.000	20.00
Combinação de dose única e dose repetida por 7 dias	20.000 - 80.000	40.000 - 90.000	80.00
Combinação de dose única e dose repetida por 10 dias	35.000 - 67.000	45.000 - 75.000	85.00
TOXICOLOGIA DE DOSE REPETIDA	<i>Ratos</i>	<i>Cachorros</i>	<i>M₃</i>
Dose repetida por 7 dias	20.000 - 35.000	34.000 - 70.000	55.00
Dose repetida por 14 dias	40.000 - 115.000	90.000 - 130.000	100.00
Dose repetida por 28 dias	70.000 - 150.000	100.000 - 225.000	300.00
Dose repetida por 3 meses	110.000 - 270.000	200.000 - 300.000	450.00
Dose repetida por 6 meses	215.000 - 350.000	450.000 - 500.000	550.00
Dose repetida por 9 meses	275.000 - 375.000	250.000 - 500.000	600.00
Dose repetida por 12 meses	400.000 - 550.000	500.000 - 650.000	800.00
TOXICOLOGIA GENÉTICA			
Teste Ames		5.000 - 10.000	
Ensaio de aberração cromossomial <i>in vitro</i>		10.000 - 35.000	
Teste de micronúcleo <i>in vivo</i> (camundongos/ratos)		10.000 - 30.000	
TOXICOLOGIA REPRODUTIVA	<i>Camundongos / Ratos</i>	<i>Coelhos</i>	
Estudo de fertilidade: ratos	75.000 - 160.000		
Toxicidade desenvolvimento de escala	30.000 - 50.000	40.000 - 60.000	
Toxicidade de desenvolvimento	60.000 - 145.000	125.000 - 175.00	
Multigeração peri e pós natal	155.000 - 250.000		

ANEXO VI
ETAPAS DE IMPLEMENTAÇÃO DAS BPL EM UMA INSTALAÇÃO T

TABELA I: Estágios do projeto e marcos		
<i>Número</i>	<i>Estágio</i>	<i>Descrição</i>
1	Nomear uma equipe de implementação do Projeto BPL	<ul style="list-style-type: none"> • O gerente da instalação nomeia um líder de projeto. • O líder do projeto nomeia uma equipe multidisciplinar, com a • O líder do projeto elabora um documento formal para informar datas do projeto. - Os objetivos do projeto incluem um plano para o prazo de co - Datas para as reuniões de equipe são marcadas.
	<i>MARCO 1</i>	<i>O gerente da instalação tem uma reunião de lançamento do projeto e elabora uma circular a todos os funcionários.</i>
2	Estabelecer tarefas a serem alcançadas durante a vida do projeto	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar uma análise para avaliar o que falta na organização p consultoria (interna ou externa à organização) realiza esta análise durante a instalação ao longo de um período de 04 a 05 dias. - Os passos essenciais para a implementação das BPLs são sug • Os membros da equipe do projeto, de comum acordo, definem tarefas necessárias para atingir as normas das BPLs. - A Tabela 3 é um modelo deste tipo de negociação. • Com base na análise das lacunas existentes, a equipe do projet ação (tabela com as atividades do projeto) para alcançar a impl - Para alcançar esta tabela, as reuniões de equipe do projeto são do que durante o resto do projeto.
	<i>MARCO 2</i>	<i>Criação da tabela detalhada com as atividades do projeto. Apresentação da tabela para o gerente de instalação.</i>
3	Reuniões para a revisão do projeto	<ul style="list-style-type: none"> • A equipe do projeto revisa mensalmente a evolução do projeto • A tabela de atividades do projeto é atualizada a cada reunião. • A equipe investiga as tarefas não concluídas no tempo estabelecido
4	Evolução do projeto	<ul style="list-style-type: none"> • Comunicar a evolução do projeto, a toda equipe, em intervalos • A comunicação é organizada de forma atrativa por meio de m

		descrevem a evolução do projeto ou em artigos veiculados em c intranet.
	MARCO 3	<i>Seis reuniões mensais ou anuais com os líderes de time de todos gerenciamento da comunicação para todo o pessoal da instituição Este marco iria ocorrer em um ou dois momentos estratégicos a as atividades principais ou documentos chaves forem implemen finais, controle das atualizações dos POPs, arquivos estabeleci principais de computador) Estes marcos seriam acordados com o gerente e quando a tabel deverá ser instituída.</i>
5	Implementação de tarefas	<ul style="list-style-type: none"> • A medida que as diversas tarefas forem concluídas, elas serão e farão parte dos processos de rotina da organização. • Em algum estágio da implementação do projeto, o setor de Ga (GQ) será nomeado. Depois da GQ implementada, esta será resq funcionamento dos processos.
6	Encerramento do projeto	<ul style="list-style-type: none"> • Quando todas as tarefas indicadas na tabela de atividades do p projeto é encerrado por uma auditoria formal (4-5 dias) conduzi mesmo auditor que realizou a análise inicial). • A auditoria final vai estabelecer o grau de cumprimento das Bl • Qualquer exigência solicitada pela auditoria final deve ser imp • O laboratório pode solicitar o cumprimento das BPLs e adicioi Estudo no relatórios finais.
	MARCO 4	<i>A gerência se reúne com toda a equipe (equivalente a uma reun forma apropriada a implementação bem sucedida das BPLs.</i>
<i>Implementação gradual dos requisitos das BPLs</i>		
A Tabela II mostra uma implementação típica da BPL ao longo de 24 meses. Presume-se que o laboratóri de BPL ou documentação organizada no início, como demonstrado pela análise de lacunas. O processo grac implementação seja realizada de forma estruturada de modo que o progresso seja evidente e as atividades 1 primeiras atividades realizadas com sucesso na implementação de sistemas relativamente simples (como s: pessoal) incentivarão ao pessoal a continuar realizando atividades mais difíceis do processo. A equipe do p atividades muito detalhada do projeto (conforme modelo da tabela III), com base nas etapas mostradas aba		
TABELA II Parte 1 (3 meses)		

<i>Passo</i>	<i>Conteúdo</i>	<i>Comentários</i>
1.1	Providenciar treinamento em BPL para todos os funcionários.	Treinamento de 1-2 dias mostrando os pontos fundamentais das E a organização. A ênfase é dada da maneira como os dados são coletados e tratad
1.2	Construir um organograma para a organização. Assegurar que o organograma seja assinado e datado pelo gerente.	Assegurar que as pessoas responsáveis pelos estudos (futuro diret responsáveis pela GQ, sejam independentes.
1.3	O gerente da instalação nomeia: • os diretores de estudo • o pessoal da garantia da qualidade • arquivista	O gerente da instalação redige memorandos formais de nomeação papel a ser desempenhado por cada grupo de funcionários e os sig cumprimento das BPLs.
1.4	Preparar formatos padrão para os documentos pessoais • <i>Curricula vitae</i> • descrições de cargo • registros de treinamento	Obter o acordo do gerente da instalação para os formatos.
1.5	Reunir os documentos pessoais para todos os funcionários usando o formato aprovado no item 1.4	Garantir que cada um assine seu <i>Curricula vitae</i> , seus registros de de cargos. O seu superior imediato também deve assinar a descriçã
1.6	Escrever um POP do estabelecimento e da revisão dos organogramas e documentos pessoais	
1.7	Decidir quem será responsável pela gestão do sistema de organização dos	Em pequenas empresas, a gestão dos POPs pode ser de responsab uma tarefa trivial, exige tempo, recursos, planejamento cuidadoso A definição deve abranger a maneira pela qual os POPs são identi

	POPs Definir o sistema em um POP. Todos os POPs novos serão gerenciados por meio do sistema definido.	assinatura, analisados, revisados, arquivados, emitidos e cancelad
1.8	Estabelecer arquivos. Escrever um POP para o processo de arquivamento.	Garantir que o acesso aos arquivos seja restrito ao menor número de que as idas aos arquivos deverão ser registradas. Certificar-se documentos estejam sendo registradas. Assegurar-se de que as condições ambientais para os arquivos sej natureza do material arquivado. Estabelecer disposições de segurã

TABELA Parte II 2 (3 meses)

<i>Passo</i>	<i>Conteúdo</i>	<i>Comentários</i>
2.1	Escrever um POP para o conteúdo e para o formato dos procedimentos. Preparar procedimentos modelo.	Os modelos servirão como guias detalhados para os Diretores do em elaborar procedimentos compatíveis com as BPL no futuro. Considerar a abordagem sugerida no Consenso da OCDE para est muito ser adequado para a instalação.
2.2	Treinar os Diretores dos Estudos nos seus papéis e responsabilidades referentes à BPL.	Existem cursos externos para esse treinamento, mas se há muitos interessante considerar cursos internos, com 2 ou 3 dias de duraçã
2.3	Escrever um POP do fluxo de trabalho (redação, revisão, aprovação, alteração, distribuição e arquivamento) dos protocolos.	Não se esquecer de incluir a revisão da GQ na lista de revisões do
2.4	Colocar o procedimento padrão em teste, utilizando-o nos estudos pertinentes. Revisar os problemas revelados pelo	

	uso do modelo. Decidir que outros documentos são necessários para dar suporte ao procedimento (pode ser que precisem de documentos de métodos ou POPs detalhados para determinadas técnicas).	
2.5	Preparar o POP para o conteúdo e formato dos relatórios, ou preparar o modelo dos relatórios de modelo para o tipos de estudos realizados pela instalação.	Os modelos servirão como guias detalhados para os Diretores do em elaborar procedimentos compatíveis com as BPL no futuro. Considerar a abordagem sugerida no Consenso da OCDE para est muito ser adequado para a instalação.
2.6	Escrever um POP do fluxo de trabalho (redação, revisão, aprovação, alteração, distribuição e arquivamento) dos protocolos.	Não se esquecer de incluir a revisão da GQ na lista de revisões do

TABELA II, parte 3 (6 meses)

<i>Passo</i>	<i>Conteúdo</i>	<i>Comentários</i>
3.1	Montar um sistema que seja consenso entre todas as partes interessadas para identificação dos equipamentos e dos instrumentos. Escrever um POP explicando o sistema utilizado para a identificação dos	Os números de identificação serão utilizados mais à frente, quando dados brutos, de forma a assegurar rastreabilidade das operações, manutenção.

	equipamentos e dos instrumentos.	
3.2	Listar de todos os equipamentos e instrumentos utilizados na laboratório. É melhor fazer isso setor por setor, por exemplo: <ul style="list-style-type: none"> • Patologia clínica. • Laboratório analítico. • Biotério. • Microbiologia. • Histologia. • Farmácia e preparação da dose. • Etc. 	A lista deve incluir balanças, medidores de pH, componentes dos instrumentos que exijam manutenção e/ou calibração. Garantir que identificada de forma única.
3.3	Identificar fisicamente (por meio de etiqueta) todos os equipamentos/instrumentos listados de acordo com o sistema.	
3.4	Escrever um POP do livro de registro do equipamento (levando-se em consideração o ciclo de vida), sua importância e utilização.	
3.5	Abri um livro de registro para cada peça de equipamento.	O livro de registro será utilizado em toda vida útil do equipamento de manutenção, anormalidades e ações corretivas, etc. Uma vez que o livro de registro é criado, a gerência da instalação
3.6	Decidir o método de manutenção e metrologia para cada peça de equipamento (criação da	A maneira em que você organização da manutenção dos equipamentos do tamanho da atividade das BPL e do tamanho do local onde ficam grandes instalações precisam criar unidades de manutenção separadas. A manutenção for gerenciada por cada unidade local, é interessante

	<p>unidade de manutenção e metrologia ou a responsabilidades da manutenção é das unidades operacionais etc) Definir em POPs a programação da manutenção para todos os equipamentos listados.</p>	<p>pela manutenção.</p>
3.7	<p>Considerar que equipamentos de larga escala ou instalações precisam ser formalmente qualificados. (Qualificação significa coleta de documentação para a instalação e realização de testes no equipamento para provar que ele está funcionando de acordo com as especificações).</p>	<p>Nas instalações onde os animais são usados em estudos não-clínic Ventilação e Ar Condicionado (HVAC) deve ser qualificado. Igualmente, em laboratórios de microbiologia, os sistemas de flux requerer qualificação. Outras instalações podem exigir qualificação.</p>
3.8	<p>Qualificar os sistemas escolhidos para qualificação.</p>	<p>Consultores especializados podem ser contratados para qualificar unidades essa contratação não é prática e nem custo-efetiva.</p>
3.9	<p>Decidir que manutenção ou operações de qualificação necessitam de contratos externos. Assinar os contratos com as empresas. O contrato deve conter o plano de documentação de forma a assegurar a</p>	<p>O trabalho de qualificação requer qualificação procedimento form término do trabalho. Consome tempo e recurso. Se houver muitos sistemas que precisem de qualificação, ou se os é razoável esperar que a qualificação seja concluída em um período tempo.</p>

	rastreabilidade do contrato de trabalho.	
TABELA II Parte 4 (dois meses)		
<i>Passo</i>	<i>Conteúdo</i>	<i>Comentários</i>
4.1	Estabelecer uma Unidade de Garantia da Qualidade	Em pequenas empresas esta unidade pode ser constituída de uma A Gerência da Instalação deve emitir um memorando formal para responsabilidades a GQ e da linha de comunicação. Isso é bem explicado nos Princípios da OCDE de BLP e no docur e BLP.
4.2	Treinar o pessoal da GQ em auditoria e técnicas de inspeção.	Existem programas de formação externa nessas técnicas. Deve-se especificamente orientado para BLP. O curso terá a duração de 2
4.3	Descrever o programa GQ com base nas 3 abordagens de inspeção descritas nas BPL da OCDE. Implementar inspeções e auditorias de GQ e iniciar o processo de elaboração de relatórios para o Diretor do Estudo e para a Gerência da Instalação.	
TABELA II Parte 5 (2 meses)		
<i>Passo</i>	<i>Conteúdo</i>	<i>Comentários</i>
5.1	Definir regras para a recepção, identificação, manuseio e armazenamento de todos os itens de teste, reagentes e itens de referência.	Lembrar que todos os itens teste precisam ser identificados e cara relação ao manuseio dos itens teste e outros produtos químicos, c questões relacionadas à estabilidade das substâncias, bem como a não haja contaminação cruzada entre os itens.
5.2	Estabelecer como determinar	A maioria dos laboratórios cria regras relativas às datas escritas e Essa data é baseada na data indicada pelo fabricante, em combina

	a vida útil de reagentes e itens de referência. Escreva POPs para a rotulagem de todos os itens de teste, soluções e reagentes e de referência.	do recipiente.
5.3	Definir regras e escrever os POPs para a preparação de soluções utilizadas para formulações de dose.	Embora cada formulação seja preparada à sua maneira, os POPs de forma na qual a preparação está documentada, os testes necessários (homogeneidade, testes de estabilidade ou outros) e de que forma são usados.
5.4	Definir regras para a recepção, identificação, manuseio, quarentena e criação de todos os sistemas de teste	Se o sistema de teste for um animal as legislações locais sobre cuidados devem ser respeitadas. Todos os animais devem ser identificados. No caso em sistemas de teste não serem animais inteiros, as definições de sistema (linha celular, expressão bacteriana, genotipagem etc) devem ser respeitadas.
TABELA Parte II 6 (2 meses)		
<i>Passo</i>	<i>Conteúdo</i>	<i>Comentários</i>
6.1	Definir os dados que farão parte dos dados brutos em todas as unidades operacionais e de que forma eles serão registrados. Definir as regras para aquisição, modificação e aprovação dos dados brutos.	Alguns dados brutos serão escritos à mão. Definir a maneira de registrar esses dados, por exemplo, nos modelos pré-estabelecidas. Alguns vão ser impressos a partir dos equipamentos (por exemplo, dados brutos serão diretamente obtidos por meio de sistemas computacionais e validados). O método para a assinatura e armazenamento de dados deve ser definido. A organização deve ter uma única regra sobre como devem ser feitas as assinaturas (assinadas, datadas etc) e de que forma devem ser justificadas e aprovadas. Deve garantir uma rastreabilidade completa das modificações, no caso de alterações.
6.2	Definir o processo de verificação de dados brutos em todas as unidades operacionais. Definir os passos do Controle de Qualidade (CQ) em	A verificação dos dados por alguém com autoridade nas unidades operacionais. Devem ser definidos os passos do controle de qualidade para a verificação e entrega-los ou antes de entregar os relatórios dos estudos à GQ para a GQ executar auditoria de 100% dos dados fornecidos a ela. Essa auditoria deve ser definida em POPs e seguida pelos funcionários das unidades operacionais.

	relação aos dados e relatórios antes de solicitar uma auditoria à GQ. Escrever POPs sobre essa verificação de POPs e sobre o trabalho do CQ.	
TABELA II Parte 7 (3 meses)		
<i>Passo</i>	<i>Conteúdo</i>	<i>Comentários</i>
7.1	Listar todos os sistemas de informática utilizados dentro da instalação.	
7.2	Definir quais sistemas requerem validação formal.	Sistemas que requerem validação são aqueles que têm um impacto dos estudos pré-clínicos. Usar o documento de Consenso da OCD para auxiliar nisso.
7.3	Escrever um POP para o processo de validação e seus documentos genéricos. Escrever os procedimentos de validação formal para os sistemas que precisarem de validação.	Para sistemas bastante complexos pode ser interessante procurar o processo. É útil apontar uma Equipe de Validação para ser responsável pelo sistema selecionado. A equipe da Garantia da Qualidade e o pessoal da informática podem ser responsáveis pelo procedimento, mas a responsabilidade recai sobre o dono do sistema. Pode-se solicitar ao fornecedor do sistema que ele prepare um procedimento. Lembrar de incluir os testes de validação para assegurar o bom funcionamento. backup e verificar se a segurança por senha é adequada.
7.4	Conduzir o teste de validação após a validação dos procedimentos.	Lembrar-se de que a responsabilidade final é do usuário que deve usar os sistemas validados. Assim, o usuário deve executar a maior parte do teste.
7.5	Escrever relatórios de validação formal para os sistemas validados.	Esses devem ser assinados pela(s) pessoa(s) responsável(is) pelos sistemas.
7.6	Treinar formalmente os funcionários no uso dos sistemas de informática de que eles precisam.	Manter registros do programa de treinamento. Adicionar registros de treinamento para todos os indivíduos.

7.7	Escrever os POPs para uso e manutenção dos sistemas informatizados.	
7.8	Prosseguir com um comunicado formal "liberado para uso" do sistema, após a conclusão da validação e do treinamento, e após a aprovação dos POPs.	Empreiteiros especializados pode ser usado para qualificar sistema prático e de custo eficaz para fazer isso a si mesmo.
7.9	Definir as regras de direitos de acesso e senhas e escrever um POP para isso.	É comum ter uma organização centralizada unidade (normalmente responsável pelo estabelecimento e emissão de acesso direitos. As senhas devem ser definidos de uma comprimento e de frequência.

TABELA II Parte 8 (3 meses)

<i>Passo</i>	<i>Conteúdo</i>	<i>Comentários</i>
8.1	Revisar os POPs existentes e listar os POPs pendentes.	O grupo recém-criado da GQ poderá auxiliar na elaboração da lista
8.2	Elaborar um cronograma para elaborar esses POPs. Indicar os nomes dos autores e definir tempo para revisão adequada antes da assinatura.	
8.3	Estabelecer um Plano Mestre para todos os estudos em curso na instalação. Decidir quem deve gerenciar esse Plano e escrever um POP referente seu gerenciamento e manutenção.	

8.4	Realizar uma segunda análise de lacunas para determinar qualquer falha que ainda possa haver no cumprimento das BPL. Elaborar um plano de ação para abordar essas questões.	A análise de lacunas é mais bem executada por alguém que não se preocupou com as BPL nos relatórios de estudo. Uma vez que estas questões têm sido abordadas com sucesso, é possível elaborar um plano de ação para abordar essas questões.
O projeto é articulado sobre o desenvolvimento de uma Tabela de Atividades do Projeto. É uma tabela de atividades identificadas de forma a tornar a instalação cumpridora das BPL. Essa tabela é posteriormente utilizada para o acompanhamento das atividades realizadas pela equipe do projeto. A figura abaixo é ilustrativa (e incompleta) e será elaborada.		

TABELA III tabela de tarefas do projeto para implementação das BPL				
<i>Tarefa</i>	<i>Responsável</i>	<i>Atualizado por</i>		
Lista de todos os equipamentos - Laboratório Analítico - Laboratório de Patologia Clínica - Laboratório de Histologia	Sr B Sr C Sr L	Sr E Sr F Sra G		
Configurar os registros de calibração / livros de registro	Sra T	Sra Z		
Produção de formato padrão do livro de registro - Medidor de Resistência - Balanças - Medidores de pH - Manômetros - Termômetros - Micropipetas	Sra U Sra V Sra W Sra X Sra Y Sr L Sra F	Sr G Sra Y Sr B Sr F Sra U Sra G Sr H		
Etc	Etc	Etc		

Os prazos são definidos pelo número correspondente ao mês, sendo o prazo final o último dia desse mês. 1
junho do ano em questão.

A = Em andamento (a tarefa ainda não está completa) C = Concluída

No início do projeto todas as tarefas têm o status "Em andamento". À medida que as tarefas são concluídas
que a tabela contenha todas as tarefas desde o início. Vai exigir modificações e acréscimos no decorrer do
responsável pela manutenção da tabela. A tabela é sempre apresentada nas reuniões regulares da equipe de
nunca implementou um sistema de gestão da qualidade, a tabela de atividades do projeto deverá conter ent

Fonte: O

