

# Avaliação de Segurança Biológica de Materiais de Uso em Saúde de Base Nanotecnológica

Guia nº 63/2023 – versão 1



# Avaliação de Segurança Biológica de Materiais de Uso em Saúde de Base Nanotecnológica

VIGENTE A PARTIR DE 04/08/2023

Início do período de contribuições: 04/08/2023

Fim do período de contribuições: 04/12/2023

Este Guia expressa o entendimento da Anvisa sobre as melhores práticas com relação a procedimentos, rotinas e métodos considerados adequados ao cumprimento de requisitos técnicos ou administrativos exigidos pelos marcos legislativo e regulatório da Agência.<sup>1</sup>

Trata-se de instrumento regulatório não normativo, de caráter recomendatório e não vinculante, sendo, portanto, possível o uso de abordagens alternativas às proposições aqui dispostas, desde que compatíveis com os requisitos normativos aplicáveis ao caso concreto. A inobservância ao conteúdo deste documento não caracteriza infração sanitária, nem constitui motivo para indeferimento de petições, desde que atendidos os requisitos exigidos pela legislação.

As recomendações contidas neste Guia produzem efeitos a partir da data de sua publicação no Portal da Anvisa ficam sujeitas ao recebimento de sugestões da sociedade por meio de formulário eletrônico, disponível em <https://pesquisa.anvisa.gov.br/index.php/868311?lang=pt-BR>.

As contribuições<sup>2</sup> recebidas serão avaliadas e poderão subsidiar a revisão do Guia e a consequente publicação de uma nova versão do documento. Independentemente da decisão da área, será publicada análise geral das contribuições e racional que justifique a revisão ou não do Guia.

<sup>1</sup>[Portaria nº 162, de 12 de março de 2021](#), que dispõe sobre as diretrizes e os procedimentos para melhoria da qualidade regulatória na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

<sup>2</sup>A fim de garantir maior transparência ao processo de elaboração dos instrumentos regulatórios editados pela Anvisa, esclarecemos que os nomes dos responsáveis pelas contribuições (pessoas físicas e jurídicas) são considerados informações públicas e serão disponibilizados de forma irrestrita nos relatórios e outros documentos gerados a partir dos resultados deste Guia. Já o e-mail e o CPF dos participantes, considerados informações sigilosas, terão seu acesso restrito aos agentes públicos legalmente autorizados e às pessoas a que se referem tais informações, conforme preconiza o artigo 31, §1º, inciso I da Lei nº 12.527, de 18 de novembro de 2011. Outras informações que venham a ser consideradas sigilosas pelos participantes poderão ser apensadas em campo específico no formulário eletrônico.

Copyright©2023. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. A reprodução parcial ou total deste documento por qualquer meio é totalmente livre, desde que citada adequadamente a fonte. A reprodução para qualquer finalidade comercial está proibida.

## LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÔNIMOS E SIGLAS

AFSSAPS – Agência Francesa de Segurança Sanitária de Produtos para Saúde  
AMES – *Salmonella typhimurim reverse mutation assay*  
ANSM – *Agence Nationale de Sécurité du Medicament et des Produits de Santé*  
ASTM – *American Society for Testing and Materials*  
BET – *Brunauer-Emmett-Teller (Theory)*  
DLS – *Dynamic Light Scattering*  
DNA – *Deoxyribonucleic acid*  
FTIR – *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*  
GEMAT – Gerência de Tecnologia de Materiais de Uso em Saúde  
ICP-MS – *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*  
ICP-OES – *Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry*  
ISO – *International Organization for Standardization*  
ISO/TR – *International Organization for Standardization/Technical Report*  
IMDRF – *International Medical Device Regulators Forum*  
LLNA – *The Local Lymph Node Assay (Ensaio de Linfonodo Local Murino)*  
MDR – *Medical Device Regulation*  
MEV – Microscopia eletrônica de varredura  
MET – Microscopia eletrônica de transmissão  
MFA – Microscopia de Força Atômica  
MIRIBEL – *Minimum Information Reporting in Bio-Nano Experimental Literature*  
MSV – Microscopia de sonda de varredura  
MTT – (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl) -2,5-difenil brometo de tetrazolina)  
MTS – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -5- (3-carboximeoxifenil) -2- (4-sulfofenil) -2H- tetrazólio  
MVT – Microscopia de varredura por tunelamento;  
NM – Nanomaterial  
OCDE – Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico  
RDC – Resolução de Diretoria Colegiada  
SCENIHR – *Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks*  
XTT – (2, 3 – Bis- (2-Metoxi-4-Nitro-5-Sulfofenil) -2H-Tetrazólio-5-Carboxanilida)  
3Rs – *Replacement, Reduction and Refinement*

## SUMÁRIO

<b>1. ESCOPO .....</b>	<b>5</b>
<b>2. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>5</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>5</b>
<b>4. BASE LEGAL.....</b>	<b>6</b>
<b>5. CONTEXTUALIZAÇÃO REGULATÓRIA .....</b>	<b>6</b>
<b>6. AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA BIOLÓGICA.....</b>	<b>7</b>
6.1 NANOTECNOLOGIA APLICADA A MATERIAIS DE USO EM SAÚDE.....	7
6.2 REQUISITOS ESSENCIAIS DE SEGURANÇA APLICÁVEIS A MATERIAIS DE USO EM SAÚDE QUE CONTENHAM OU SEJAM CONSTITUÍDOS POR NANOMATERIAIS, À LUZ DA RESOLUÇÃO RDC N° 546/2021 .....	10
6.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DO NANAOMATERIAL EMPREGADO	11
6.4 AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA BIOLÓGICA SOB UMA PERSPECTIVA DE RISCO .....	19
6.5 REPORTE DE INFORMAÇÕES .....	32
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>35</b>
<b>8. GLOSSÁRIO .....</b>	<b>35</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>37</b>

## 1. ESCOPO

Este documento aborda considerações acerca da Nanotecnologia, mais especificamente sob o prisma da incorporação de materiais e estruturas em escala nanométrica a dispositivos médicos, neste caso categorizados como Materiais de Uso em Saúde, sob a perspectiva regulatória de uma avaliação de segurança biológica (biocompatibilidade) baseada em risco.

## 2. INTRODUÇÃO

Por se tratar de uma área multidisciplinar que envolve ciência de materiais, biologia, física, química e engenharia (SOLAIMAN et al., 2017), a Nanotecnologia estabelece interface com diversas áreas, o que a torna uma tecnologia atraente e com grande potencial para inovação, inclusive no cenário biomédico.

Contudo, preocupações relacionadas a sua segurança em contextos de exposição humana persistem (seja pelas lacunas de conhecimento quanto aos seus efeitos e potenciais riscos à saúde humana, seja pelas incertezas que ainda permeiam essa tecnologia emergente e dinâmica) – conjuntura que, apesar de impulsionar o avanço de estudos nanotoxicológicos, tem comprometido abordagens regulatórias específicas e direcionadas a produtos de base nanotecnológica.

Nesse sentido, estratégias regulatórias mais flexíveis, de natureza orientativa e não mandatária que estabeleçam diretrizes gerais à consecução de informações minimamente relevantes num contexto de avaliação de segurança biológica podem se revelar como ferramentas úteis ao processo de amadurecimento e consolidação de conhecimentos em construção, como aqueles relacionados aos campos da nanotecnologia, nanomedicina e nanotoxicologia.

Sob essa perspectiva é que se propõe, a partir de extensa revisão bibliográfica (baseada em publicações diversas, normas técnicas, legislações e documentos técnicos), a apresentação de diretrizes regulatórias nacionais para subsidiar a avaliação de segurança biológica de Materiais de Uso em Saúde que contenham ou sejam constituídos por nanomateriais, sob uma perspectiva de risco.

Cumprir enfatizar que as diretrizes ora apresentadas foram elaboradas com base no conhecimento atualmente disponível, com o objetivo de elucidar e racionalizar sua aplicabilidade ao campo objeto de interesse. Trata-se, portanto, de documento orientativo, cujas disposições devem ser ponderadas caso a caso, ou seja, com base no caso concreto, levando-se em consideração as características e o propósito do produto no contexto de utilização clínica prevista. Ademais, por se tratar de área do conhecimento ainda em progresso, essa poderá sofrer alterações ao longo do tempo, o que requererá esforço institucional ativo para incorporação de atualizações que se façam necessárias.

## 3. OBJETIVOS

Este guia tem como objetivo proporcionar ao público interessado nessa temática, bem como aos desenvolvedores e fabricantes de materiais de uso em saúde de base nanotecnológica, suporte técnico-científico ao delineamento e condução de uma avaliação de segurança biológica e nanotoxicológica compreensiva e alinhada ao conhecimento corrente, bem como à legislação sanitária vigente – com o intuito de subsidiar a comprovação de segurança biológica do material de uso em saúde objeto de interesse a ser regularizado perante a Anvisa, sob uma perspectiva de risco.

## 4. BASE LEGAL

A base normativa utilizada para estruturação das diretrizes aqui propostas foi constituída por regulamentos sanitários aplicáveis a dispositivos médicos, de modo geral – neste caso:

- A Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 751/2022 que dispõe sobre classificação de risco, regimes de regularização e requisitos de rotulagem e instruções de uso aplicáveis a dispositivos médicos. Nela encontram-se disposições relacionadas à nanotecnologia, tais como a definição de nanomaterial e outros conceitos relacionados, além de regra específica e classificação de risco baseada no potencial de exposição interna, com vistas ao devido enquadramento sanitário de dispositivos médicos de base nanotecnológica; e
- A Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 546/2021 que dispõe sobre os requisitos mínimos para comprovação de segurança e eficácia de dispositivos médicos, incluindo-se aqueles categorizados como materiais de uso em saúde que contenham ou incorporem nanomateriais.

Também alicerçaram a elaboração deste documento, as disposições constantes em normas técnicas aplicáveis à caracterização físico-química de nanomateriais engenheirados para avaliação toxicológica (ISO/TR 13014:2012), à avaliação de segurança biológica de dispositivos médicos (série ISO 10993 – Partes 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 33, incluindo-se aquela dedicada a nanomateriais – ISO/TR 10993: 22), ao gerenciamento de risco de dispositivos médicos (ISO 14971 e ISO/TR 24971) e à avaliação de risco de nanomateriais (ISO/TR 13121).

## 5. CONTEXTUALIZAÇÃO REGULATÓRIA

A partir da publicação do novo regulamento europeu em 2017 (*The European Union Medical Device Regulation – EU MDR 2017/745*) novas terminologias e tecnologias habilitadoras relevantes passaram a compor o arcabouço regulatório de dispositivos médicos pertencente a essa jurisdição. Dentre elas, destacam-se as disposições nano-específicas – contempladas sob a forma de conceitos, regra de enquadramento sanitário específica e classificação de risco norteada pelo potencial de exposição do organismo a nanomateriais contidos no produto.

Tomado como referencial regulatório ao processo de atualização do principal regulamento sanitário nacional na área de dispositivos médicos, o *MDR* teve muitas de suas disposições incorporadas à Resolução – RDC nº 751/2022, que concretiza mais um passo no movimento de convergência regulatória assumido pelo Brasil, enquanto membro fundador do principal fórum de reguladores no âmbito de dispositivos médicos, conhecido como *IMDRF (International Medical Device Regulators Forum)*.

Nesse sentido, assim como o *MDR*, a Resolução RDC – nº 751/2022 propõe o enquadramento de dispositivos médicos que contenham ou sejam constituídos por nanomateriais na Regra 19, classificação de risco estabelecida com base no potencial de exposição interna do nanomaterial empregado no produto, sendo essa categorizada como: médio risco (II) – potencial insignificante de exposição; alto risco (III) – potencial baixo de exposição; e máximo risco (IV) – potencial médio ou elevado de exposição.

Apesar de não haver critérios normativos explícitos, a avaliação de exposição interna e sua definição (como insignificante, baixa, média ou elevada) deve levar em consideração: a anatomia alcançada pelo dispositivo (local de aplicação/posicionamento); o nível de seu contato (invasividade) e tempo de duração desse contato (limitado – por até 24h; prolongado – de 24h a 30 dias ou permanente – acima de 30 dias); a finalidade de uso e forma de apresentação do nanomaterial no dispositivo médico (se livre, fixo ou incorporado a sua matriz), bem como sua sujeição a desprendimento ao longo do tempo e possibilidade de biointeração com o

organismo – de modo que a partir dessas variáveis, o fabricante possa avaliar, sob uma perspectiva de risco, o potencial de exposição do nanomaterial contido em seu produto e assim, realizar seu enquadramento na classe de risco adequada.

## 6. AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Para delimitação das informações pertinentes à avaliação de segurança biológica aplicada a materiais de uso em saúde que contenham, sejam constituídos ou que produzam nano-objetos, optou-se por uma abordagem conservadora estruturada em cinco seções: contextualização sobre materiais de uso em saúde que sejam constituídos ou incorporem nanomateriais; requisitos essenciais de segurança aplicáveis a essa categoria de produtos, segundo a Resolução – RDC nº 546/2021; caracterização físico-química do nanomaterial empregado; avaliação de segurança biológica do produto acabado, sob uma perspectiva de risco; e reporte detalhado de informações – com o intuito de racionalizar o processo de análise requerido e a elaboração documental dele resultante.

### 6.1. Nanotecnologia aplicada a Materiais de Uso em Saúde

Especificamente no âmbito de dispositivos médicos (terminologia abrangente, cujo escopo abarca três categorias de produtos, quais sejam: materiais de uso em saúde, equipamentos médico-hospitalares e dispositivos para diagnóstico *in vitro*) – definidos nos termos da Resolução RDC nº 751/2022; a aplicação da nanotecnologia tem se tornado crescente e habilitadora, por proporcionar recursos inovadores às diversas especialidades médicas (GEERTSMA et al., 2015).

Nesse cenário, materiais de uso em saúde (que incluem desde produtos mais simples como agulhas, curativos, lentes de contato até dispositivos mais complexos como cateteres de acesso venoso central e implantes, tais como os cardiovasculares e ortopédicos, por exemplo) constituem por si só um conjunto de produtos diversos, reconhecidos por suas diferentes características, finalidades e níveis de complexidade. Realidade que se repete no âmbito da Nanomedicina, que dentre outras categorias de produtos, abarca dispositivos médicos de finalidade preventiva ou terapêutica – vertente em que se inserem os materiais de uso em saúde que contenham ou sejam constituídos por nanomateriais, apresentados sob uma grande diversidade de formas, características, propósitos de uso e possibilidades de aplicação.

Conforme disposto pela norma ISO/TR 10993-22 (2017a), no contexto de dispositivos médicos, os nanomateriais podem se apresentar de forma livre, fixa ou incorporados a uma matriz, como material nanoestruturado ou como estruturas de superfície em materiais ou no próprio dispositivo. No âmbito das aplicações biomédicas, nanomateriais compósitos, metálicos, cerâmicos, poliméricos (SAJI; CHOE; YEUNG, 2010), nanotubos de carbono e superfícies nanoestruturadas são comumente utilizados – sendo sua estrutura de superfície (composição química e topografia física), associada a propriedades de molhabilidade e energia livre, bem como aos seus efeitos toxicológicos, determinantes a sua aplicação final específica (RAMOS et al., 2017).

Dentre as aplicações mais comumente observadas no âmbito de Materiais de Uso em Saúde, destacam-se:

- os nano-recobrimentos e/ou modificações [topográficas e funcionais] de superfície, enquanto estratégias para melhoria da resposta biológica (GEERTSMA et al., 2015) em termos de biocompatibilidade e biomimetização por meio de processos como:



a) a osseointegração (em implantes dentários e ortopédicos recobertos com nanomateriais cerâmicos como a hidroxiapatita, por exemplo, ou que tenham sua superfície modificada por nano-rugosidades, ou que se utilizem de nanocristais de hidroxiapatita para mimetização da composição e microestrutura óssea naturais); e

b) adesão, crescimento e proliferação celular pelo uso de matrizes de substituição dérmica e *scaffolds* (suportes) nanoestruturados, utilizados para regeneração tecidual (quando constituídos por nanofibras que mimetizem a matriz extracelular promovendo um microambiente adequado à proliferação celular);

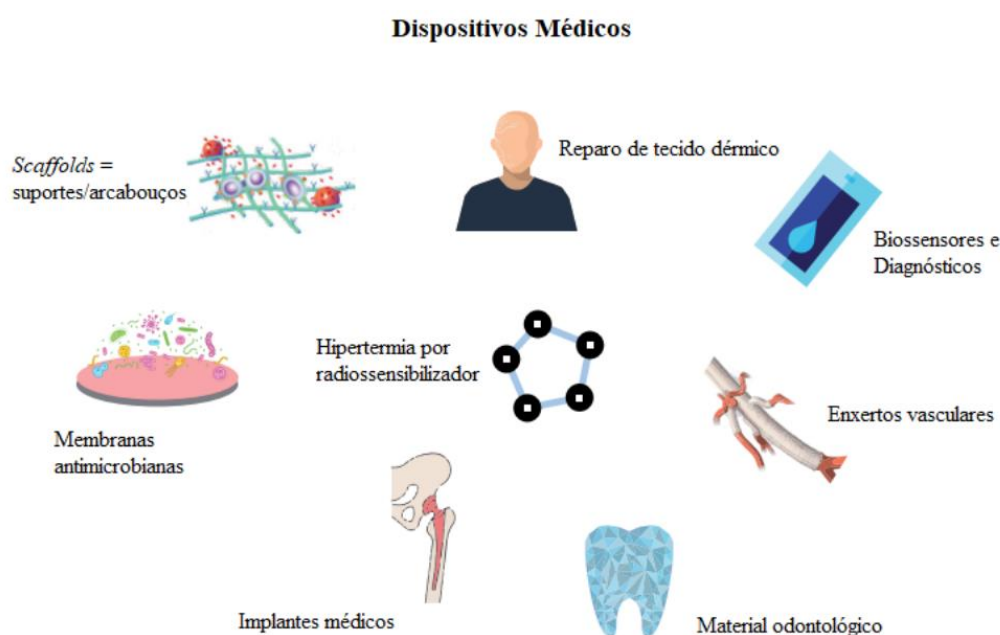
- os nano-recobrimentos constituídos por nanopartículas com propriedades antimicrobianas, como as de prata, ouro, óxido de zinco – depositadas sobre a superfície de cateteres venosos ou incorporadas a curativos, têxteis médicos (gorros, aventais), por exemplo;

- as estratégias relacionadas ao incremento de propriedades mecânicas e de resistência (observadas nos nano-preenchedores de uso odontológico pelo uso de nanocompósitos, bem como em cateteres de paredes reforçadas por nanotubos de carbono para aumento de resistência e flexibilidade), por exemplo; e

- o desenvolvimento de sistemas de entrega controlada de fármacos em cateteres e *stents* farmacológicos (baseados em matrizes nanoporosas, nanocarreadores ou superfícies nanopadronizadas, nanoporosas) (AFSSAPS, 2011; AKÇAN et al., 2020; GEERTSMA et al., 2015; HALAMODA-KENZAQUI et al., 2019; ROSZEK; JONG; GEERTSMA, 2005).

Algumas das aplicações supramencionadas encontram-se representadas na Figura 1.

Figura 1 – Possibilidades de Aplicação da Nanotecnologia a Dispositivos Médicos



Fonte: Adaptado de HALAMODA-KENZAQUI et al. (2019)

Contudo, apesar do otimismo relacionado aos importantes avanços e inovações proporcionados pela Nanomedicina, muito se discute sobre os potenciais impactos biológicos associados aos nanomateriais utilizados, que por suas propriedades físico-químicas únicas (tamanho diminuto, maior área de superfície específica, maior reatividade) poderiam alcançar locais antes inacessíveis e interagir com elementos biológicos desencadeando eventos com potencial tóxico e deletério ao organismo. Condição que demanda uma abordagem mais cautelosa pelo ente regulado, na avaliação de segurança de seus produtos de base nanotecnológica; e uma análise mais criteriosa por parte do órgão regulador, frente às incertezas que ainda permeiam a nanotecnologia aplicada em saúde.



Dentre as principais preocupações de segurança relacionadas ao uso de nanomateriais em materiais de uso em saúde (em especial, os invasivos) destacam-se:

- seu potencial para interação biológica e interferência em processos biológicos importantes a nível celular e molecular, com repercussão direta sobre diversos desfechos toxicológicos relevantes, a depender da via de exposição e duração do contato;

- seu potencial para liberação de nanomateriais livres ou de nano-objetos gerados como subprodutos de degradação, corrosão, desgaste (provocado pelo mecanismo de funcionamento do produto) ou resultantes de algum processamento fabril ou procedimento para uso – neste caso, resultantes a dispositivos médicos de base nanotecnológica ou não;

- seu potencial para translocação, alcance de órgãos secundários, transposição de barreiras biológicas e desencadeamento de respostas sistêmicas (ou a sistemas específicos);

- potencial para formação de agregados/aglomerados por nanomateriais livres ou nano-objetos liberados com possível repercussão sobre o funcionamento de sistemas importantes à manutenção da vida;

- solubilidade e potencial para acumulação, enquanto perigo especialmente relacionado a nanomateriais insolúveis ou parcialmente solúveis, já que o nanomaterial ou seu residual poderiam permanecer no organismo e nele se acumular, podendo inclusive deflagrar respostas deletérias de ordem aguda ou crônica. Situação não esperada para nanomateriais solúveis, já que uma vez dissolvidos, esses passariam a ser tratados da mesma forma que substâncias químicas convencionais [não isentas de preocupação, considerando-se as espécies dissolvidas e íons livres liberados] segundo Tantra et al. (2016).

Por isso, abordagem preventiva (*precautionary approach*), baseada em análise caso a caso, pautada por avaliação de risco sistemática e pormenorizada que leve em consideração aspectos relacionados à identificação e caracterização do nanomaterial incorporado ao produto acabado, aos possíveis cenários de exposição e potenciais perigos relacionados, a partir de testes de segurança biológica (*in vitro* e *in vivo*) definidos como necessários – deve ser adotada, tal como representado pelo diagrama a seguir.

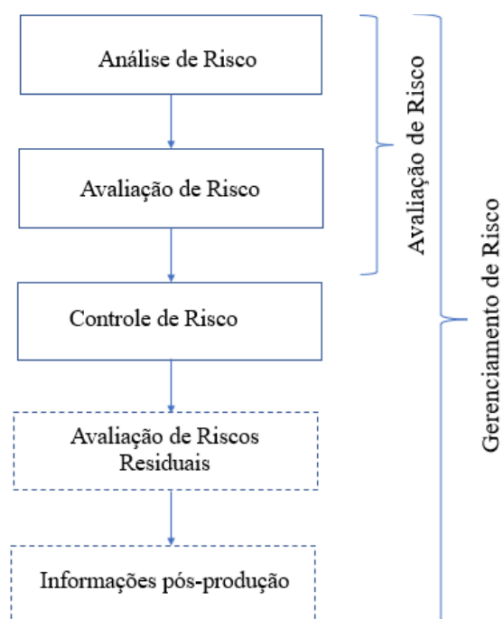
Diagrama 1 – Representação da Avaliação de Riscos Biológicos relacionados a Materiais de Uso em Saúde que contenham nanomateriais



Fonte: MOREIRA, 2022.

Conforme definido pela norma ISO 10993-1, a avaliação de risco supramencionada resulta da combinação dos processos de análise de risco (em que os riscos são identificados e estimados) e de sua avaliação (para determinação de sua aceitabilidade e eventual necessidade de medidas de mitigação/control), conforme representado no Fluxograma 1 (ISO, 2018a).

Fluxograma 1 – Representação Esquemática do Gerenciamento de Risco previsto pela norma ISO 14971:2019



Fonte: Adaptado de ISO (2018a).

Durante a análise de risco, perigos específicos são identificados e avaliados quanto a sua significância, para que assim possam ser estimados quanto ao seu risco (definido pela combinação entre probabilidade de ocorrência e nível de severidade). Sendo esse processo inserido na avaliação de segurança biológica, variáveis relacionadas ao potencial de exposição do nanomaterial contido no produto ou dele liberado; às propriedades físico-químicas, morfológicas e topográficas por ele manifestadas (enquanto nanomaterial livre, despreendido ou gerado por processos de degradação/desgaste) e; ao seu potencial toxicológico – inclusive enquanto parte do produto acabado – devem ser consideradas.

Uma vez caracterizados, os riscos precisam ser avaliados quanto a sua aceitabilidade para que, caso necessário, medidas de controle possam ser implementadas, podendo essas resultarem em adequações de projeto e revisões de processos, inclusive relacionados ao nanomaterial empregado, cujo uso apenas se justificaria num cenário favorável aos benefícios por ele proporcionados em relação aos seus potenciais riscos.

É importante ressaltar que, o processo de gerenciamento de risco previsto pela norma ISO 14971 é mais abrangente e completo, por contemplar aspectos outros, além daquele relacionado à segurança biológica – que constitui uma de suas vertentes.

## 6.2. Requisitos Essenciais de Segurança aplicáveis a Materiais de Uso em Saúde que contenham ou sejam constituídos por Nanomateriais à luz da Resolução RDC nº 546/2021

A Resolução – RDC nº 546/2021 estabelece os requisitos essenciais de segurança e eficácia aplicáveis a dispositivos médicos. Trata-se de regulamento geral e abrangente, cujas disposições aplicam-se a todo e qualquer dispositivo, independente da tecnologia ou características do material empregado – sendo, portanto, plenamente extensível ao contexto de materiais de uso em saúde que contenham ou sejam constituídos por nanomateriais, ou que incidentalmente os produzam.

Sob a perspectiva da segurança, insere-se a avaliação de segurança biológica (biocompatibilidade) que, no cenário de materiais de uso em saúde – de modo geral e que incorporem ou contenham nanomateriais e/ou

que gerem nano-objetos, deve prever e aplicar como requisitos normativos estabelecidos pela Resolução – RDC nº 546/2021:

- a concepção e fabricação de produtos que não comprometam o estado clínico e a segurança do paciente, quando utilizados sob as condições previstas, devendo os possíveis riscos existentes serem reduzidos a níveis aceitáveis em relação aos benefícios proporcionados;
- o gerenciamento responsável dos riscos pelo fabricante, com base nos princípios de eliminação ou redução dos riscos na medida do possível, adoção de medidas de proteção oportunas e disponibilização de informação sobre riscos residuais;
- a manutenção das características e desempenho do produto durante o período de validade [e/ou vida útil] estabelecido pelo fabricante e sob condições normais de uso;
- a seleção de materiais apropriados, particularmente, quanto a sua toxicidade; bem como à compatibilidade entre materiais e, entre esses e os tecidos biológicos, células e fluidos corporais;
- a minimização de riscos relacionados a contaminantes, resíduos e, de infecção – desde a concepção e processamento do produto [fase de projeto e fabricação] até a obtenção do produto acabado;
- a previsão, minimização e controle de possíveis interações do produto com materiais, substâncias e gases que com ele entrem em contato durante o seu uso e em procedimentos habituais; e
- a minimização de riscos que derivem de substâncias desprendidas do produto.

De modo que, a segurança do paciente/usuário seja priorizada e assegurada, desde a concepção do projeto até a obtenção do produto acabado e utilização clínica proposta, em um processo contínuo de análise, avaliação e controle de riscos – consolidado por ações que vão desde o projeto (que inclui *design* do produto, escolha de materiais seguros e compatíveis entre si, implementação de processos fabris apropriados) até a implementação de controles durante a fabricação e processamento do dispositivo, com vistas à eliminação ou máxima redução dos riscos identificados, inclusive no que tange a contaminantes e eventual liberação/desprendimento de substâncias que possam deflagrar eventos nocivos ao organismo. Realidade essa observável tanto no âmbito de materiais de uso em saúde, de modo geral, como entre aqueles que contenham ou sejam constituídos por nanomateriais, motivo pelo qual diretrizes base direcionadas às particularidades do processo de caracterização físico-química de nanomateriais e de avaliação de segurança biológica aplicável a essa categoria de produtos serão aqui apresentadas.

### **6.3. Caracterização Físico-Química e Biológica do Nanomaterial empregado**

Frente à possibilidade de materiais em nanoescala apresentarem propriedades físico-químicas distintas em relação aos seus equivalentes convencionais em macroescala, potencial impacto sobre seu comportamento biológico pode ocorrer, inclusive no que tange ao desencadeamento de eventos toxicológicos adversos. Assim, sua identificação e caracterização mostram-se imperativas à avaliação de segurança biológica, enquanto etapas iniciais e indispensáveis à determinação e gerenciamento de riscos sob uma perspectiva de ciclo de vida do produto.

Nesse sentido, o processo de caracterização do nanomaterial deve ser “estagiado” e, por conseguinte considerado em, idealmente, três cenários, enquanto material sintético (em seu estado original); disperso em meio biológico relevante que mimetize o cenário de exposição esperado para determinação de sua identidade biológica (considerando a formação do complexo nanomaterial-biocorona, resultante às biotransformações sofridas pelo nanomaterial exposto ao meio biológico); e, se possível, como parte do produto no seu contexto de aplicação clínica (*in situ*), condição que requererá uma análise de variáveis relacionadas à via de exposição,

forma de apresentação e finalidade do nanomaterial no produto, seu potencial desprendimento, liberação e translocação no organismo.

O último cenário pode se mostrar inviável frente às metodologias e ferramentas ora disponíveis, motivo pelo qual poderá ser, de certo modo, avaliado em momento posterior, ou seja, a partir dos resultados obtidos nos processos de caracterização e avaliação de segurança biológica (testes toxicológicos aplicáveis) do produto acabado que contenha o nanomaterial. A condução de uma caracterização físico-química completa constitui fator crítico ao planejamento da avaliação de segurança biológica sob uma perspectiva de risco.

Considerando-se a diversidade de propriedades físico-químicas listadas em normas técnicas e mencionadas em literatura, bem como a completude da caracterização requerida para fins regulatórios – análise dos atributos aplicáveis ao caso concreto, com vistas à identificação de perigos relacionados deverá ser realizada pelo fabricante.

Para tanto, sugere-se que os atributos dispostos pela norma ISO/TR 13014 sejam tomados como referência e ponto de partida, o que não exclui consulta e inclusão de outros atributos gerais considerados aplicáveis, e que estejam disponíveis em outras fontes tais como literatura, documentos e normas técnicas relacionadas ao nanomaterial objeto de interesse. Quanto aos atributos específicos, esses serão variáveis e poderão ser definidos com base na natureza do nanomaterial, sua finalidade, forma de aplicação no produto e seu potencial de exposição no organismo, bem como no *design*, forma de apresentação, nível e tempo de contato no organismo e funcionalidade do produto acabado – amparados por conhecimentos disponíveis em literatura relacionada e normas técnicas aplicáveis.

Atributo central a ser necessariamente considerado em qualquer processo de caracterização no âmbito de nanomateriais é o tamanho, que em termos normativos e regulatórios, tem sido, em geral, especificado dentro do intervalo dimensional, convencionalmente, estabelecido entre 1 e 100 nm.

Nos termos da definição de nanomaterial, disposta na Resolução RDC nº 751/2022, é necessário que não só o tamanho, mas também o número de partículas e a distribuição de tamanho também sejam considerados e mensurados, a fim de que todos os requisitos nele contemplados sejam evidenciados.

Quanto à possibilidade de enquadramento de materiais que ultrapassem o marco superior de 100 nm até o limite de 1000 nm, como nanomateriais, essa apenas se configurará frente à demonstração de que propriedades tamanho-dependentes distintas e não observáveis no mesmo material em macroescala estejam presentes, agregando ao produto no qual estariam contidas melhorias e/ou diferenciais relacionados a sua segurança ou desempenho.

Em relação a outros atributos físico-químicos gerais importantes a serem considerados no processo de identificação e caracterização do nanomaterial, citam-se: forma da partícula (dimensão e relação de aspecto), área de superfície específica, densidade, composição química (núcleo, superfície, geral), propriedades de superfície (carga, recobrimento, afinidade), cristalinidade/defeitos, pureza/impurezas/presença de contaminantes (inclusive biológicos), solubilidade/dispersabilidade, estados de agregação/aglomeração (KARAKUS; BILGI; WINKLER, 2020; ISO, 2011) – alguns deles representados pela Figura 2.

Figura 2 - Representação de algumas propriedades físico-químicas importantes à aplicação biomédica



Fonte: Adaptado de NAVYA, DAIMA (2016)

No que tange aos atributos específicos, sua definição guarda estreita correlação com fatores relacionados à aplicação e finalidade do nanomaterial no produto, via de exposição, uso pretendido e sua forma de apresentação no dispositivo, devendo, portanto, ser considerados por meio de avaliação caso a caso. Dentre eles citam-se: características de superfície (modificações de superfície por meio de funcionalização, estratégias de recobrimento, encapsulamento para mitigar a toxicidade, por exemplo), atividade catalítica ou fotocatalítica, pH, características de estrutura e topografia – aplicáveis a superfícies nanoestruturadas (tal como a rugosidade) e, aquelas relacionadas a estruturas/superfícies nanoporosas (tais como tamanho, estrutura, densidade e distribuição de poros), taxa de dissolução, taxa de degradação, corrosividade.

Sobre o processo de caracterização de nanomateriais, faz-se oportuno ressaltar que esse, diferentemente das caracterizações realizadas para análise de materiais fora da nanoescala (que priorizam atributos essencialmente químicos) – privilegia igualmente a análise de atributos físicos e químicos (incluindo suas impurezas), já que ambos exercem importante influência sobre o comportamento cinético, as interações biológicas e os eventos toxicológicos deflagrados por nanomateriais no organismo humano, além de também lhes conferir propriedades únicas concebíveis em uma ampla gama de possíveis aplicações.

Ademais, considerando-se que alterações mínimas em quaisquer das características de um dado nanomaterial podem resultar em mudanças substanciais de suas propriedades (ISO, 2011), o processo de caracterização físico-química requerido para fins regulatórios deve ser realizado no material especificado para uso no produto, conforme estabelecido em projeto, uma vez que a partir dessa avaliação, a identidade (sintética e biológica) do nanomaterial será determinada e o plano de avaliação de segurança biológica, sob uma perspectiva de gerenciamento de risco, estruturado.

Nesse contexto, avaliações baseadas em similaridade, obtidas a partir de nanomaterial diferente (com algum grau de similitude declarada em relação àquele que será utilizado no produto) podem ser temerárias, sendo por isso, desencorajadas, já que, atualmente, não há sistemas suficientemente sólidos, devidamente validados, e que sejam aceitos no âmbito regulatório para triagem ou agrupamento de materiais com características semelhantes, e que, portanto, viabilizem extrapolações confiáveis.

Corroborando esse entendimento, disposição constante no texto da norma ISO/TR 10993- 22, a respeito da equivalência de nanomateriais, que por sua natureza, dependeria de múltiplos fatores, e não apenas da composição para ser estabelecida, já que outras propriedades nano-específicas poderiam ser influenciadas por outros aspectos, inclusive externos, capazes de impactar a identidade e o comportamento do nanomaterial. Do mesmo modo, a extrapolação de resultados provenientes de outros produtos que utilizem ou contenham nanomaterial similar ou de composto parental correspondente da mesma substância (pertencente à mesma família química) – não é, em geral, aplicável (ISO, 2017a). Portanto, o conceito de equivalência apenas deve ser

alegado se, apropriadamente, demonstrado e justificado por dados – o que não se constitui tarefa fácil (AFSSAPS, 2011).

Outro ponto importante a ser mencionado no contexto de caracterização refere-se à variedade de metodologias analíticas disponíveis e suas limitações para determinação dos atributos definidos – condição que reforça a necessidade de justificativa para escolha de cada um dos métodos, bem como das associações propostas entre eles, visto que em geral, mais de uma metodologia é ou precisa ser utilizada – seja para conferir maior confiabilidade às mensurações realizadas, seja para racionalizar recursos pelo processamento de avaliações em simultâneo de mais de um atributo.

Faz-se oportuno considerar a adequabilidade dos métodos disponíveis ao tipo de nanomaterial e sua apresentação, ao atributo a ser avaliado e às condições requeridas para análise. No Quadro 1 são apresentados alguns dos principais atributos de interesse e respectivos métodos analíticos aplicáveis, nos termos do disposto pelas normas técnicas ISO/TR 13014 (2012) e ISO/TR 10993-22 (2017a).

Quadro 1 – Relação de Metodologias Analíticas aplicáveis à mensuração das principais características físico-químicas, segundo as normas ISO/TR 13014 (2012) e ISO/TR 10993-22 (2017a)

<b>Características físico-químicas</b>	<b>Metodologias aplicáveis</b>
<b>Tamanho de Partícula e Distribuição de Tamanho de Partículas</b>	Espalhamento dinâmico de luz ( <i>Dynamic Light Scattering – DLS</i> ); Cromatografia por exclusão de tamanho; Microscopia eletrônica de varredura (MEV); Microscopia eletrônica de transmissão (MET); Microscopia de sonda de varredura (MSV); Espectroscopia de Raman; Microscopia Confocal; ...
<b>Estado de Agregação/Aglomerção</b>	Difração por raio-X; Espalhamento dependente de ângulo em diferentes comprimentos de onda; Espalhamento de raios-x de pequeno ângulo; Dispersão de luz estática; Difração de laser; Microscopia eletrônica de transmissão (MET); ...
<b>Morfologia (forma física e estrutura cristalina)</b>	Microscopia eletrônica de varredura (MEV); Microscopia eletrônica de transmissão (TEM); Microscopia de Força Atômica (MFA); Microscopia de sonda de varredura; Técnicas de Escaneamento; ...
<b>Área de Superfície</b>	Métodos baseados em isotermas de adsorção de gás ou líquido [ <i>Brunauer-Emmett-Teller (BET) Theory</i> ]; Incandescência induzida por laser; ...
<b>Composição Química e Pureza</b>	Fluorescência de raio-X; Espectroscopia fotoeletrônica de raio X; Difração por raios X de Fourier; Espectroscopia Infravermelho por Transformada de Fourier ( <i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy – FTIR</i> ), Espectroscopia Raman e outras espectroscopias moleculares;



	Análise de pureza Termogravimétrica; Microscopia eletrônica de varredura (MEV); Ressonância Nuclear Magnética; ...
<b>Química de Superfície</b>	Espectroscopia de elétrons Auger; Espectroscopia fotoeletrônica de raio-X; Espectroscopia de íons de baixa energia; Espectroscopia Raman e outras espectroscopias moleculares; Tomografia de sonda atômica 3D; Espectrometria de raios-X dispersiva de energia; ...
<b>Carga de Superfície</b>	Ponto isoelétrico; Espalhamento eletroforético de luz; Eletroforese; ...
<b>Solubilidade/Dispersabilidade</b>	Não existem métodos específicos para avaliação da solubilidade de nano-objetos. Contudo, pode-se reportar a diálise de equilíbrio, espectroscopia de emissão de massa por plasma indutivamente acoplado ( <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry – ICP-MS</i> ) ou espectroscopia de emissão óptica de plasma indutivamente acoplado ( <i>Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry – ICP-OES</i> ) como possíveis métodos de mensuração.  Filtração de fluxo tangencial para separação de nanomateriais seguida por detecção apropriada.  Métodos para avaliar dispersabilidade de nano-objetos são baseados no tamanho de partícula/distribuição de tamanho e estados de agregação/aglomeração.
<b>Nanoestruturas de Superfície</b>	Interferometria; Reflectometria; Microscopia de sonda de varredura (MSV); Microscopia de força atômica (MFA); Microscopia de varredura por tunelamento (MVT); ...

Fonte: Adaptado de ISO (2012) e ISO (2017a).

Ressalta-se que essa é uma relação não exaustiva e não taxativa podendo, portanto, ser complementada por outros parâmetros relevantes identificados em consulta a outras normas técnicas ou à literatura corrente; bem como não ser plenamente aplicável a depender do caso concreto.

Frente à inviabilidade de condução de algum ensaio pela indisponibilidade ou inadequabilidade de algum método analítico à avaliação de atributo definido como necessário ou sob as condições requeridas – é desejável que justificativa técnica e cientificamente embasada, inclusive no que tange à necessidade de avaliações complementares para identificação, mitigação ou controle de eventuais perigos ou mesmo riscos relacionados, seja elaborada e apresentada.

Cumpra pontuar que certificado emitido pelo fornecedor do nanomaterial a ser utilizado no produto, a respeito de suas especificações técnicas, não se constitui como documento comprobatório único e suficiente para fins regulatórios, tanto pela necessidade de verificação independente – conforme ponderado por Stone; Johnston; Schins (2009) [em termos de conformidade e mesmo aceitabilidade]; como pelo fato de o processo de caracterização requerido, enquanto parte do processo de avaliação de segurança biológica, ser mais abrangente e detalhado, já que deve contemplar não só a identidade sintética do nanomaterial, mas também a biológica, sob condições relevantes e que mimetizem a exposição esperada.

Ademais, outros fatores críticos nesse cenário de caracterização que não podem ser desconsiderados relacionam-se:

- ao preparo da amostra, a ser preferencialmente realizado conforme protocolo reconhecido, devidamente identificado e descrito no relatório do ensaio relacionado;
- à possibilidade de interferência causada por variáveis confundidoras, que devem ser identificadas, descritas e, sempre que possível, minimizadas para que a interpretação dos resultados não seja comprometida;
- à variabilidade lote a lote que deve ser considerada e minimizada pela adoção de boas práticas de fabricação pelo fornecedor e fabricante, cabendo ao último estabelecer critérios para avaliação do fornecedor, especificando requisitos, inclusive de qualidade que deverão ser satisfeitos.

Outro aspecto importante a ser considerado no contexto de caracterização de nanomateriais utilizados no âmbito da saúde, refere-se à avaliação de seu potencial tóxico, realizada por meio de alguns testes de triagem toxicológica, com vistas à compreensão das nanobiointerações e de possíveis repercussões adversas deflagradas por propriedades nano-específicas. Dentre os testes comumente realizados nessa etapa (subsequente à caracterização físico-química propriamente dita), dita de “caracterização biológica”, destacam-se aqueles relacionados à avaliação de viabilidade celular – expressa por diferentes mecanismos e, por conseguinte, identificada por diferentes métodos de teste de citotoxicidade; de genotoxicidade – também manifestada por diferentes desfechos, sendo por isso analisada por mais de um teste; de indução de estresse oxidativo; resposta inflamatória e imunológica; bem como de contaminação por endotoxinas.

Além desses, testes mais específicos e relacionados ao cenário de exposição do nanomaterial a ser utilizado encontram-se previstos e descritos na norma ISO/TR 16197 (2014a), que dentre outros ensaios dispõe sobre testes de hemocompatibilidade, testes para avaliação de transposição a barreiras biológicas e sistemas específicos, teste toxicocinético – cuja pertinência deve ser ponderada conforme aplicação e exposição prevista para o nanomaterial objeto de interesse, no dispositivo médico em que será incorporado.

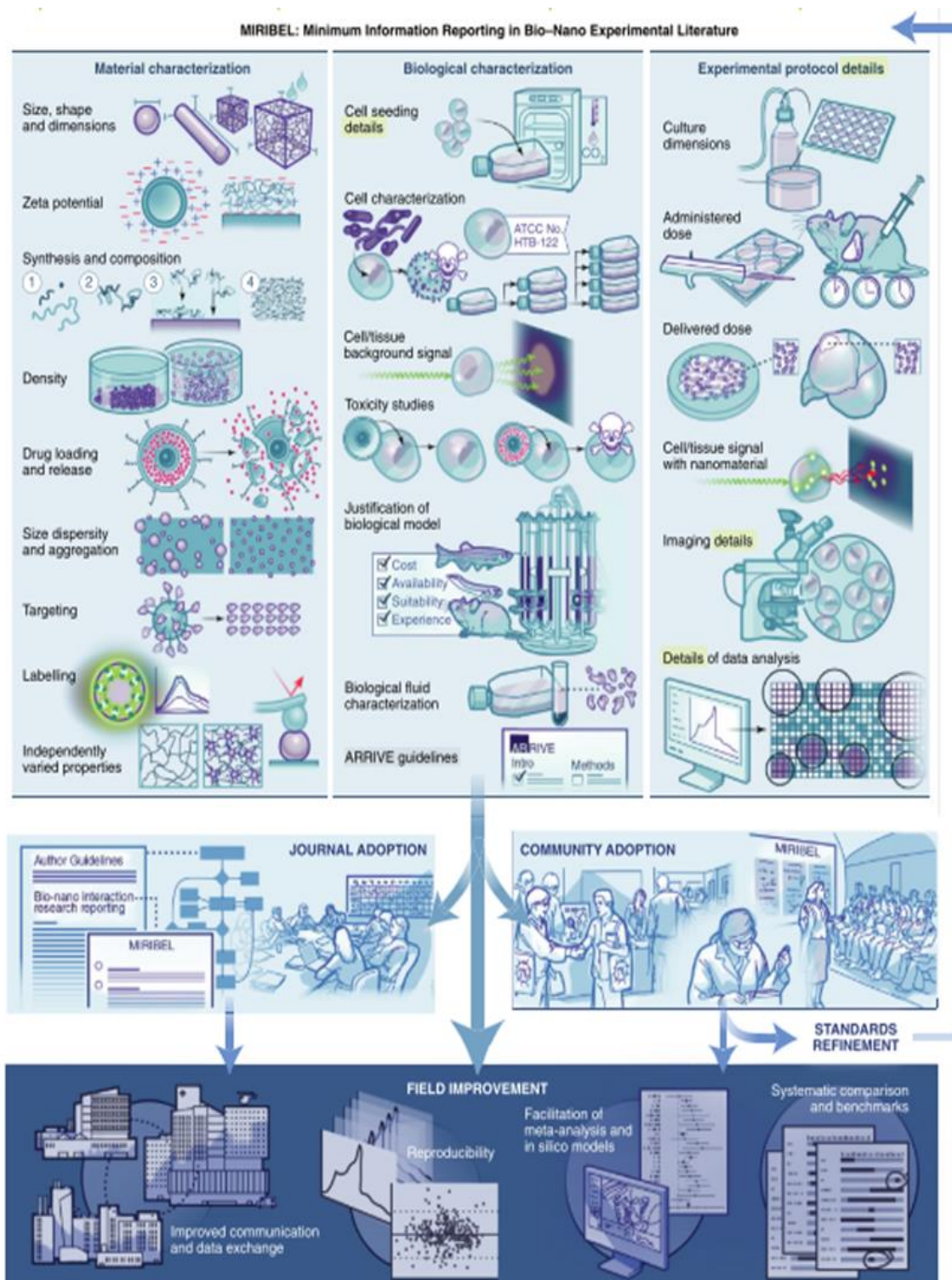
Com vistas a uma maior confiabilidade e mesmo reprodutibilidade dos dados obtidos a partir dessas avaliações, recomenda-se que metodologias validadas (próprias ou adaptadas para análise de nanomateriais, tais como aquelas disponíveis no âmbito da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico

(OCDE), *International Organization for Standardization (ISO)* e *American Society for Testing and Materials (ASTM)* sejam adotadas, haja vista ser essa uma limitação importante no campo da nanotoxicologia, ainda marcado por publicações de qualidade metodológica variável, protocolos experimentais pouco detalhados e apresentação de resultados contraditórios que inviabilizam comparações, comprometendo assim a compreensão de fenômenos, sua transposição para cenários fisiológicos reais, bem como sua aceitabilidade para fins regulatórios, e mesmo aproveitamento dos dados gerados para melhoria e avanço de metodologias preditivas.

Além disso, a adoção de instrumentos que direcionem o “registro padrão” de informações relevantes e com o nível de detalhamento necessário à demonstração do percurso metodológico seguido para obtenção de dados qualificados, confiáveis e significativos também contribui para o avanço e consolidação desse processo de padronização.

Para esse contexto de caracterização e experimentação em nanobiointerações, a estrutura MIRIBEL (*Minimum Information Reporting in Bio-Nano Experimental Literature*), proposta por Faria et al. (2018), e baseada nos pilares da caracterização do material, da caracterização biológica e no detalhamento de protocolos experimentais – mostra-se como uma referência amigável à elaboração de relatos mais completos e úteis, não apenas à comunidade científica, mas a outros atores envolvidos e interessados na geração, troca e melhor aproveitamento de dados qualificados para fins diversos – tal como representado e sumarizado pela Figura 3.

Figura 3 - Representação dos componentes MIRIBEL e destaque a alguns aspectos relevantes considerados no relato de processos de caracterização e experimentação em nanobiointeração



**Fig. 1 | Summary of MIRIBEL components, guiding principles and potential benefits.** The development of MIRIBEL was guided by principles of reusability, quantification, practicality and quality. If combined with journal and community adoption, MIRIBEL can lead to improved outcomes in the field, including data exchange and communication, reproducibility, deeper analysis of published data, and systematic comparison between approaches and materials.

Fonte: FARIA et al. (2018).

Cumprir enfatizar que, apesar de não se constituir como ferramenta de finalidade regulatória, a estrutura MIRIBEL pode ser utilizada como referência à elaboração de relatórios de ensaio/teste mais bem detalhados, em relação:

- à amostra teste avaliada;
- ao modelo de teste utilizado (se *in vitro* – tipo celular e de cultura, sua representatividade ou *in vivo* – justificativa à escolha do modelo animal, caso aplicável);
- à metodologia empregada (identificação de sua versão, caso adaptada, e referência utilizada);
- às condições de preparo/processamento da amostra, bem como de exposição – identificação e características do meio de cultura ou fluido biológico empregado, dose administrada e entregue, material de referência, uso de controles positivo e negativo;
- à adoção de medidas para minimização de interferências e literatura ou referência de suporte;
- à análise e interpretação de resultados (*software* utilizado e discussão dos achados à luz da literatura relacionada);
- às limitações do estudo.

Conjunto de informações que, conforme evidenciado, não só englobam, como extrapolam aquelas consideradas pelo modelo referenciado e acima representado, haja vista o grande número de fatores que podem impactar a condução e resultados fornecidos pelos ensaios de caracterização e experimentação realizados.

Portanto, a avaliação de efeitos danosos causados por nanomateriais requer a compreensão do todo, que envolve desde os procedimentos de síntese e métodos para caracterização do material, até uma apreciação detalhada do impacto do nanomaterial nos processos biológicos e fisiológicos (SHVEDOVA; KAGAN; FADEEL, 2010).

#### **6.4. Avaliação de Segurança Biológica sob uma Perspectiva de Risco**

Conforme asseverado pela norma ISO 10993-1, a avaliação de segurança biológica é uma atividade de verificação de projeto, que é definida no contexto de processos de gerenciamento de risco mais amplos (ISO, 2018a).

Sendo assim, quando aplicada a materiais de uso em saúde que contenham ou sejam constituídos por nanomateriais, essa avaliação deve considerar além de fatores como via de exposição, frequência e tempo de contato do produto no organismo, o tipo de nanomaterial empregado e como esse compõe o produto do qual



faz parte (se livre, fixo sob a forma de recobrimento ou incorporado a uma matriz) e como nele se comporta, quando exposto a condições fisiológicas esperadas (se sofre processos de degradação ou corrosão que o exponha a interação ou leve à liberação de subprodutos tóxicos ou mesmo de nano-objetos) – de modo a viabilizar, segundo a norma ISO 10993-1, a identificação de perigos, a estimativa de riscos biológicos associados e, por conseguinte, a determinação de sua aceitabilidade, à luz da norma ISO 14971 (ISO, 2019a).

Etapas anteriores relacionadas ao projeto do produto (*design*, composição, funcionamento) e processos empregados para sua obtenção (manufatura, limpeza, embalagem, esterilização, processos de controle) também devem ser considerados e contemplados no processo de gerenciamento de risco, frente ao seu potencial impacto sobre a segurança (inclusive biológica) do produto.

Logo, informações relacionadas a todo o ciclo de vida do produto, desde a sua concepção até sua obtenção como produto acabado, inclusive no que tange a sua aplicação, funcionamento e descarte (informações pós-produção), são necessárias a uma avaliação de risco compreensiva, que no contexto das diretrizes propostas, terá seu enfoque direcionado à avaliação de riscos biológicos relacionados à presença de nanomateriais em materiais de uso em saúde (enquanto produtos acabados) – sob a forma livre, fixos como recobrimentos, incorporados a matrizes ou apresentados como materiais/superfícies nanoestruturados; e/ou produzidos e liberados como nano-objetos incidentais de produtos constituídos ou não por nanomateriais.

Para tanto, abordagem do tipo caso a caso, estruturada a partir do planejamento e condução de testes de segurança biológica baseados em métodos de teste *in vitro* e *in vivo*, permanece como modelo recomendado para avaliação desse tipo de produto – seja pela alta especificidade de suas características, seja pela baixa qualidade metodológica dos dados nanotoxicológicos disponíveis e sua difícil extrapolação para cenários de exposição e utilização clínica diversos, seja pela indisponibilidade de modelos preditivos robustos, suficientemente validados e aceitos para fins regulatórios que viabilizem avaliações por similaridade.

Cumprido ressaltar que, em observância ao princípio dos 3Rs (*replacement, refinement and reduction*), métodos de teste alternativos ao uso de animais devem ser priorizados e adotados sempre que disponíveis e devidamente validados para avaliação de nanomateriais utilizados em ou liberados de dispositivos médicos (ISO, 2017a).

De modo geral, para determinação dos testes necessários à avaliação de segurança biológica de dispositivos médicos, incluindo-se materiais de uso em saúde que contenham ou sejam constituído por nanomateriais ou que gerem e liberem nano-objetos, devem ser considerados os seguintes aspectos:

- as propriedades físico-químicas do nanomaterial empregado, sua disposição no produto (livre, incorporado ou fixo a uma matriz), seu potencial para interação e/ou liberação para o meio;
- os resultados dos testes de triagem toxicológica do nanomaterial a ser utilizado;



- a natureza das matérias-primas empregadas e potenciais alterações *in situ* observadas ao longo do ciclo de vida do produto (bioabsorção/degradação/corrosão);
- as características topográficas, morfológicas e físico-químicas do produto final;
- a finalidade/uso pretendido do dispositivo;
- a natureza (nível de invasividade) e a duração de contato do produto no organismo;
- as condições de exposição a que o produto ficará sujeito, considerando a forma de utilização clínica prevista.

Assim, considerando-se os aspectos supramencionados em conjunção com as disposições constantes na norma ISO 10993-1, relacionadas à categorização de dispositivos médicos, esses são classificados quanto ao seu:

**a) Nível de Invasividade:**

- Não-invasivos:
  - Sem contato com o organismo (ex. tubos de coleta de sangue);
  - Em contato com superfícies (pele e membranas mucosas) íntegras ou comprometidas/lesadas.
- Invasivos:
  - De comunicação externa: representados por produtos que entrem em contato direto ou indireto com a circulação sanguínea ou que estabeleçam contato com tecidos/ossos/dentina;
  - Dispositivos Implantáveis projetados para ser total ou parcialmente introduzidos no corpo humano por meio de intervenção cirúrgica e que se destinem a permanecer no local por mais de 30 dias;

**b) Duração de Contato**

- Exposição limitada: quando o contato cumulativo do material de uso em saúde perdura por até 24h;
- Exposição prolongada: quando o contato cumulativo do material de uso em saúde ultrapassa 24 horas, mas não excede 30 dias;
- Exposição de longo prazo: quando o contato cumulativo do material de uso em saúde excede os 30 dias.

A partir das classificações realizadas (quanto ao seu nível de invasividade e tempo de contato no organismo), tem-se a base para identificação dos desfechos de interesse e planejamento da avaliação de segurança biológica de dispositivos médicos de modo geral, incluindo-se os materiais de uso em saúde que contenham ou sejam constituídos por nanomaterial, conforme esquematização apresentada no Quadro 2.

Quadro 2 - Quadro-Resumo de Desfechos Biológicos previstos pela norma ISO 10993-1 (2018a) a serem considerados na Avaliação de Segurança Biológica de Materiais de Uso em Saúde que contenham ou sejam constituídos por nanomateriais sob uma Perspectiva de Gerenciamento de Risco

Categorias de dispositivos			Desfechos biológicos passíveis de avaliação nos termos da norma ISO 10993-1																			
Contato com o corpo humano	Duração do contato		Caracterização físico-química, morfológica e/ou topográfica – conforme aplicável	Lixíviáveis e Extratáveis,	Citotoxicidade	Sensibilização cutânea	Irritação ou Reatividade intracelular	Progenidade (material mediada e por contaminantes)	Estudo de toxicocinética (ADME)	Toxicidade sistêmica aguda (24h)	Toxicidade sistêmica subaguda (24h a 28 dias)	Toxicidade sistêmica subcrônica (90 dias)	Toxicidade sistêmica crônica (6 a 12 meses)	Toxicidade específica (reprodutiva/desenvolvimental, cardiotoxicidade, neurotoxicidade, etc)	Imunotoxicidade	Implantação	Hemocompatibilidade	Genotoxicidade	Carcinogenicidade	Degradação		
			Dispositivo médico de superfície	Pele íntegra	Limitado	✘	●	●	●													
Prolongado	✘	●			●	●																
Permanente	✘	●			●	●																
Membrana mucosa	Limitado	✘		●	●	●																
	Prolongado	✘		●	●	●				●	●						●					
	Permanente	✘		●	●	●				●	●	●	●				●		●			
Superfície comprometida ou lesada	Limitado	✘		●	●	●	●			●												
	Prolongado	✘		●	●	●	●	●		●	●					▲	●					●
	Permanente	✘		●	●	●	●	●	▲	●	●	●	●			▲	●		●	●	●	●
Dispositivo médico de comunicação externa	Contato indireto com a circulação sanguínea	Limitado	✘	●	●	●	●		●								●					
		Prolongado	✘	●	●	●	●	●	▲	●	●					▲		●			●	
		Permanente	✘	●	●	●	●	●	▲	●	●	●	●			▲	●	●	●	●	●	●
	Contato com tecido/osso/dentina	Limitado	✘	●	●	●	●		●													
		Prolongado	✘	●	●	●	●	●	▲	●	●					▲	●		●			●
		Permanente	✘	●	●	●	●	●	▲	●	●	●	●			▲	●		●	●	●	●
Circulação sanguínea	Limitado	✘	●	●	●	●		●									●	●				
	Prolongado	✘	●	●	●	●	●	▲	●	●				▲	▲	●	●	●	●		●	
	Permanente	✘	●	●	●	●	●	▲	●	●	●	●		▲	▲	●	●	●	●	●	●	
Dispositivo médico implantável	Tecidos/Ossos	Limitado	✘	●	●	●	●		●													
		Prolongado	✘	●	●	●	●	●	▲	●	●				▲	▲	●		●		●	
		Permanente	✘	●	●	●	●	●	▲	●	●	●	●		▲	▲	●		●	●	●	
	Sangue	Limitado	✘	●	●	●	●		●									●	●			
		Prolongado	✘	●	●	●	●	●	▲	●	●				▲	▲	●	●	●	●		●
		Permanente	✘	●	●	●	●	●	▲	●	●	●	●		▲	▲	●	●	●	●	●	●

**Legenda:**

- ✘ Pré-requisito necessário a uma avaliação de risco no âmbito da norma técnica ISO 10993-1:2018.
- Testes previstos na norma ISO 10993-1 aplicáveis a dispositivos médicos, de modo geral – passíveis ou não de condução conforme caso concreto.
- ▲ Testes a considerar, especialmente, no contexto de dispositivo médico que contenham ou sejam constituídos por nanomateriais, ou que gerem e liberem nano-objetos.
- ▲ Testes a considerar, conforme achados do estudo de toxicocinética.

Fonte: Adaptado de ISO (2018a).

Portanto, além das informações físico-químicas e toxicológicas referentes ao nanomaterial que irá compor o material de uso em saúde, este (enquanto produto acabado) também deve ser avaliado quanto aos seus potenciais riscos biológicos, motivo pelo qual não apenas testes de caracterização (físico-química, morfológica e/ou topográfica, bem como de nano-objetos potencialmente liberados) e de toxicidade comumente previstos pela norma técnica ISO 10993-1 (conforme categorização do produto) devem ser realizados.

Isso porque, a depender da composição/constituição do produto, dos processos de manufatura empregados, da forma de integração e de apresentação do nanomaterial no produto final – outros testes poderão ser requeridos para identificação de riscos relacionados a processos de degradação, desprendimento e liberação de nanomateriais livres ou incorporados a uma matriz degradável, circulação, possível transposição de barreiras biológicas e interação com sistemas específicos, bioacumulação e deflagração de respostas inflamatória e imunológica, com possíveis desdobramentos toxicológicos de longo prazo.

Assim, testes de degradação e toxicocinética podem compor a estratégia (inicial) de testes de avaliação de segurança biológica a ser implementada no caso concreto. Especificamente no que tange à avaliação toxicocinética, essa pode apontar para a necessidade de condução de outros ensaios mais específicos, tais como os de imunotoxicidade, toxicidade reprodutiva e/ou desenvolvimental, neurotoxicidade, toxicidade crônica (caso evidenciado risco de acumulação, para avaliação de efeitos de longo prazo) a depender dos achados observados.

Por outro lado, esses mesmos achados também podem sinalizar para a não identificação de riscos adicionais relacionados ao nanomaterial associado (neste caso incorporado ou fixo a uma matriz não degradável, sendo seu potencial de exposição interna considerado negligenciável) ou ao próprio material de uso em saúde (cuja aplicação não resulte na liberação de nano-objetos) – condição que leva à possibilidade de condução dos demais testes de avaliação de segurança biológica sob bases convencionais, inclusive a partir de dados provenientes da literatura, que sejam capazes de evidenciar a segurança do produto com base no conhecimento corrente aplicável (até mesmo em relação à tecnologia de incorporação do nanomaterial, sua estabilidade e permanência no produto) e/ou por meio da condução dos testes previstos pela norma, segundo a categorização aplicável ao produto – para que em conjunto com os achados preliminares anteriormente considerados (caracterização do nanomaterial e testes de triagem nanotoxicológica) seja possível demonstrar a segurança biológica do produto acabado.

Em relação aos testes referenciados no Quadro-Resumo anteriormente apresentado, faz-se oportuno pontuar algumas considerações relevantes a respeito de cada um deles, nesse contexto de análise de materiais de uso em saúde que contenham, sejam constituídos ou que liberem nanomateriais, conforme disposto no Quadro 3.

Quadro 3 - Especificidades aplicáveis à avaliação de Materiais de Uso em Saúde que contenham, incorporem ou liberem nanomateriais

	<b>Desfechos</b>	<b>Testes</b>	<b>Observações</b>
1.	<b>Caracterização físico-química, morfológica e/ou topográfica</b>	Ensaios considerados conforme o caso concreto.	Etapa crítica ao delineamento do plano de avaliação de segurança biológica de quaisquer dispositivos médicos, especialmente, daqueles constituídos por nanomateriais.
2.	<b>Lixiviáveis</b>	A avaliação de risco de lixiviação de substâncias químicas presentes em dispositivos médicos encontra-se disposta na norma ISO 10993-17 (2002).	A metodologia para avaliação de limites aceitáveis para essas substâncias também pode ser aplicada a nanomateriais (SCENIHR, 2015).
3.	<b>Citotoxicidade</b> (morte celular, inibição do crescimento celular, formação de colônias, e outros efeitos celulares – disfunção metabólica, resposta inflamatória...)	Metodologias diversas aplicáveis a materiais convencionais, mas também utilizadas para avaliação de nanomateriais dentre as quais citam-se os ensaios de formação de colônia, MTT, XTT, MTS adaptado (previsto pela norma ISO 19007 (2018b), dedicada à mensuração de efeito citotóxico deflagrado por nanopartículas).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Recomendada a combinação de pelo menos dois métodos de ensaio diferentes (que avaliem desfechos distintos) para uma interpretação cientificamente válida (AFSSAPS, 2011; MONTEIRO-RIVIERA et al., 2009).</li> <li>- Condição justificada pela possível interferência causada por nanomateriais na leitura de resultados colorimétricos e fluorométrico devido a propriedades de absorvância fotométrica e fluorescência intrínsecas, bem como por sua alta reatividade e potencial ligação a agentes corantes (AFSSAPS, 2011) e (ISO, 2017a).</li> <li>- Atenção à escolha do teste, do tipo/modelo celular e às características do nanomaterial mostra-se fundamental a avaliações mais assertivas (ISO, 2017a).</li> </ul>
4.	<b>Sensibilização</b>	O Teste de Maximização em Porquinhos-da-Índia é o único recomendado para o contexto de análise que envolva nanomateriais ( <i>Guinea Pig Maximization test – GPMT</i> ).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Método mais relevante para detecção de possível atividade de sensibilização por nanomaterial (aplicação intradérmica).</li> <li>- Identifica risco de hipersensibilidade tardia apenas.</li> <li>- Por serem aplicados em pele íntegra, o ensaio de linfonodo local (LLNA) e o teste em porquinhos-da-Índia Buehler são inadequados para avaliação de nanomateriais que, para ter seu potencial de sensibilização avaliado, precisem penetrar na pele (GEERTSMA et al., 2015).</li> </ul>

5.	<b>Irritação/Reatividade Cutânea</b>	<p>a) Teste de Irritação dérmica (aplicação tópica);</p> <p>b) Teste de Reatividade Cutânea (aplicação intradérmica).</p>	<p>a) Aplicável a produtos em contato com a derme/epiderme ou mucosa;</p> <p>b) Avalia reação localizada do tecido exposto ao nanomaterial/dispositivo. - Aplicável a produtos implantáveis ou que entrem em contato com o sangue, sendo também útil à avaliação de nanomateriais hidrofóbicos.</p>
6.	<b>Pirogenicidade</b> (material mediada e/ou mediada por pirógenos biológicos)	<p>Teste de Lisado de Amebócito Limulus (<i>Limulus Amebocyte Lysate</i> – LAL), específico para endotoxinas bacterianas;</p> <p>Teste de Monócito Ativado (<i>Monocyte Activation Test</i> – MAT), destinado à detecção de outros pirógenos (leveduras, parasitas, vírus);</p> <p>Teste de pirogenicidade em coelho (<i>in vivo</i>), destinado à detecção (indiscriminada) de reações pirogênicas material mediadas.</p>	<p>- Avaliação importante já que mesmo a esterilização terminal não inativa endotoxinas bacterianas, facilmente adsorvidas à superfície de nanomateriais;</p> <p>- A presença de endotoxinas na superfície do nanomaterial pode atuar como variável confundidora, por interferir na interação entre nanomaterial e sistemas biológicos, e assim levar a conclusões incorretas sobre a biocompatibilidade do nanomaterial (ISO, 2017a).</p> <p>- Nenhum teste é capaz de diferenciar reações pirogênicas mediadas por material daquelas devido à contaminação por endotoxinas. A pirogenicidade mediada por material é rara, tendo essa sido observada em dispositivos médicos que contêm derivados de materiais biológicos (ISO, 2018a).</p>
7.	<b>Estudos de Toxicocinética</b>	<p>Tipo de estudo que envolve a avaliação de processos de absorção, distribuição, biotransformação e excreção – sendo por isso considerados para produtos que entrem em contato direto como o organismo, com especial ênfase àqueles que sejam implantáveis, que contenham nanomateriais livres e/ou que apresentem/liberem produtos de degradação em nanoescala.</p>	<p>- Para sua condução, devem ser considerados aspectos relacionados:</p> <p>a) à finalidade/natureza do produto (se é absorvível, se foi projetado para contato de longo prazo, se sofre processos de corrosão ou degradação (conhecida ou provável);</p> <p>b) ao seu potencial para liberação de quantidades substanciais de produtos de degradação reativos ou potencialmente tóxicos, lixiviáveis e/ou nano-objetos incidentais e íons durante seu ciclo de vida (ISO, 2018a).</p>

8.	<b>Toxicidade Sistêmica</b>	Testes de toxicidade sistêmica – aguda (24h), subaguda (24h a 28 dias), subcrônica (90 dias) e crônica (6 a 12 meses), conforme a duração de contato do produto ou possibilidade de desencadeamento de eventos adversos no longo prazo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- A seleção do órgão/tecido a ser submetido à análise histopatológica deve ser realizada caso a caso, com ênfase no sistema retículo-endotelial – especialmente, fígado e baço, por serem órgãos comumente afetados pela circulação de nanomateriais (AFSSAPS, 2011; ISO, 2017a).</li> <li>- A depender da rota de exposição e uso pretendido do produto – órgãos como rim, cérebro, medula óssea, dentre outros podem requer análise (AFSSAPS, 2011; ISO, 2017a).</li> <li>- Para produtos contendo nanomaterial recomenda-se que a análise realizada seja o mais completa possível, com avaliação de parâmetros clínicos, biológicos e anatomo-patológicos (AFSSAPS, 2011).</li> <li>- Parâmetro chave a ser considerado nesse tipo de avaliação é a solubilidade do nanomaterial – que se insolúvel pode resultar em sobrecarga, acúmulo sistêmico, e eventos adversos no longo prazo. (AFSSAPS, 2011) e (ISO, 2017a).</li> </ul>
9.	<b>Toxicidade Reprodutiva/ Desenvolvimental</b>	A diretriz OCDE 421 pode ser útil como método de triagem para obtenção de informações iniciais sobre esse desfecho, e por conseguinte, para avaliação de perigos a ele relacionados (ISO, 2017a).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Essa avaliação pode ser requerida caso o nanomaterial ou seus metabólitos alcancem os órgãos reprodutivos – o que pode ser evidenciado por meio do estudo toxicocinético (SCENIHR, 2015) (ISO, 2017a).</li> <li>- Dispositivos que possam impactar o sistema reprodutivo (por exposição prolongada ou permanente do produto ou pela presença de nanopartículas ou lixiviáveis de nanomaterial cuja eliminação completa não tenha sido demonstrada) também devem ter essa avaliação considerada (ISO, 2017a).</li> </ul>
10.	<b>Genotoxicidade</b> (mutações genéticas, mudanças na estrutura e número de cromossomos e outras toxicidades genéticas ou ao DNA).	Abordagem baseada em bateria de testes <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> (ISO, 2018a).  São tidas como opções recomendadas para avaliação de Materiais de Uso em Saúde que contenham nanomaterial ou liberem	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estratégia sensível à detecção de diferentes mecanismos de indução de danos genéticos. (ISO, 2014b; ISO, 2015b)</li> <li>- Os métodos de teste <i>in vivo</i> são considerados como uma abordagem do tipo peso de evidência, aplicável frente à inviabilidade de condução de testes <i>in vitro</i> ou como uma espécie de “contraprova” aos achados positivos</li> </ul>



		<p>nano-objetos por metodologia <i>in vitro</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Teste de mutação gênica usando células de linfoma de rato (OCDE 476 modificado);</li> <li>- Teste de micronúcleo (OCDE 487 modificado) em conjunto com um ensaio de mutação genética ou ensaio de linfoma de rato;</li> <li>- Ensaio do cometa.</li> </ul> <p>Em relação às metodologias de teste <i>in vivo</i>, seriam recomendados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Teste de micronúcleo (OCDE 474 modificado);</li> <li>- Teste de aberração cromossômica (OCDE 475 modificado);</li> <li>- Teste do cometa (OCDE 489 modificado).</li> </ul>	<p>ou divergentes obtidos por métodos <i>in vitro</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Para todos os testes <i>in vitro</i> é necessário que se demonstre a captura de nanomateriais para que sua potencial exposição ao DNA possa ser considerada (SCENIHR, 2015).</li> <li>- O Teste de Mutação Bacteriana Reversa, conhecido como Teste de Ames (<i>Ames bacterial reverse mutation assay</i> – OCDE 471), não é aplicável à avaliação de nanomateriais, devido a sua propensão a resultados falso-negativos. Isso porque a estrutura celular das bactérias atua como uma barreira à difusão de nanomaterial, especialmente, de aglomerados (ISO, 2017a).</li> <li>- Caso condução de teste <i>in vivo</i> seja necessária, sua escolha deve ser definida por especialista, considerando o caso concreto e achados advindos dos testes <i>in vitro</i> e demais testes de toxicidade (SCENIHR, 2015) (ISO, 2017a).</li> <li>- Quanto às metodologias referenciadas na coluna à esquerda, essas deverão ser consideradas sempre que disponíveis em versões modificadas e validadas para dispositivos médicos.</li> <li>- Os resultados dos estudos de genotoxicidade podem ser úteis para predição de carcinogenicidade de nanomateriais, sendo a avaliação desse desfecho então considerada.</li> </ul>
11.	<b>Carcinogenicidade</b>	<p>Pode ser endereçada por avaliação de risco, a partir de informações relacionadas à identificação química das impurezas, extraíveis ou substâncias químicas lixiviáveis, à exposição do paciente a essas substâncias, ao seu modo de ação e ao peso de evidência (2018a).</p>	<p>Os resultados de estudos de genotoxicidade podem ser úteis para predição da carcinogenicidade de nanomateriais (ISO, 2017a), já que para materiais genotóxicos, o perigo carcinogênico pode ser presumido e o risco devidamente gerenciado (ISO, 2014b).</p> <p>Logo, caso a realização de teste de carcinogenicidade seja, de fato, necessária sua determinação e adequabilidade à amostra teste deve ser avaliada caso a caso.</p>
12.	<b>Imunotoxicidade</b>	<p>Testes de Toxicidade subaguda (28 dias) ou subcrônica (90 dias) –</p>	<p>Sua condução deve levar em consideração:</p> <p>a) a natureza química dos materiais;</p>

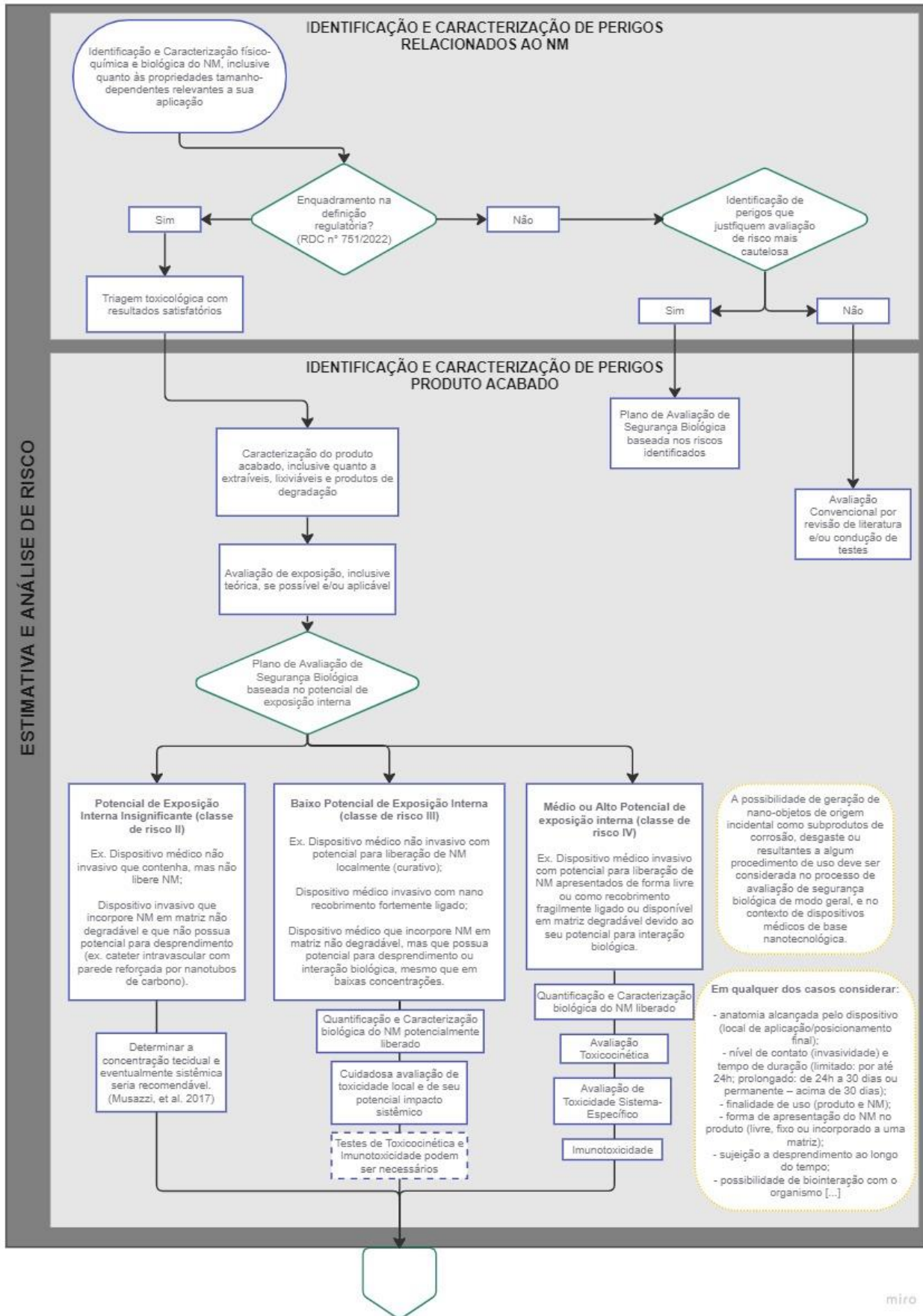
		<p>também conhecidos como testes de toxicidade repetida – podem fornecer as primeiras indicações de imunossupressão e/o imunoestimulação (ISO, 2017a).</p> <p>Para dispositivos médicos (incluindo-se materiais de uso em saúde que contenham nanomateriais), recomenda-se a condução de estudos de implantação prolongados para investigação do desfecho de imunotoxicidade. (ISO, 2017a).</p> <p>Outra opção considerada são os modelos <i>in vitro</i> para avaliação de vias de sinalização em linhagens imunológicas específicas (ISO, 2017a).</p>	<p>b) dados sugestivos de efeitos imunotóxicos (detectáveis durante os testes de toxicidade repetida pela captura de nanomateriais pelas células do sistema fagocitário mononuclear);</p> <p>c) potencial imunogênico desconhecido do material objeto de interesse.</p>
<b>13.</b>	<b>Hemocompatibilidade</b> (avaliação de hematologia, trombose, coagulação, plaquetas e sistema complemento).	<p>Produtos de superfície nanoestruturada podem ser avaliados pelas metodologias descritas na norma ISO 10993-4 (ISO, 2017b).</p> <p>Nanomateriais e nano-objetos livres impõem maiores dificuldades devido a sua maior relação superfície/volume, à formação do complexo nanomaterial-corona e à nanobiointeração estabelecida, e seu potencial para agregação/aglomeração – requerendo, portanto, métodos diferenciados (preferencialmente,</p>	<p>- De modo geral, trata-se de avaliação aplicável a produtos que entrem em contato com a circulação sanguínea, apesar de também ser aplicável a condições de contato indireto, proporcionado pela liberação de nanomateriais ou nano-objetos fora do sistema circulatório, que sofram translocação e alcancem esse sistema.</p> <p>- A hemocompatibilidade é um aspecto chave a ser considerado para produtos que apresentem superfície nanoestruturada, nanomateriais livres ou que gerem nano-objetos incidentais, frente ao seu potencial para deflagrar a formação de trombos ou mesmo de resposta imunológica (via complemento).</p> <p>- O potencial para translocação dessas estruturas para a corrente sanguínea pode ser identificado pelo estudo toxicocinético, que nesse caso</p>

		reconhecidos e validados) (ISO, 2017a).	apontará para a necessidade de avaliação de hemocompatibilidade. - Para esse desfecho, as propriedades físico-químicas do nanomaterial, nanoestrutura ou nano-objeto assumem relevância ímpar (principalmente aquelas avaliadas em meio biológico relevante), por modularem suas nanobiointerações, inclusive a nível imunológico.
<b>14.</b>	<b>Implantação</b>	- Metodologia de teste <i>in vivo</i> .	- Teste aplicável a produtos implantáveis. - Sua condução deve levar em consideração a rota de exposição do produto. - Seu protocolo pode ser expandido de modo que os testes de toxicidade sejam nele incorporados. - Para avaliação de nano-objetos livres, injeção direta no tecido alvo pode ser considerada (ISO, 2017a).
<b>15.</b>	<b>Degradação</b>	Os mecanismos de degradação podem ser simulados <i>in vitro</i> para determinação das taxas de degradação e liberação de substâncias, subprodutos ou nano-objetos tóxicos para estimativa de exposição.  Testes <i>in vivo</i> também podem ser requeridos.	- Os testes de degradação devem ser considerados para dispositivos: a) projetados para serem absorvidos; b) cujo uso pretendido seja superior a 30 dias; c) com potencial para sofrer processos de degradação, desgaste, atrito, abrasão, polimento, corrosão – e gerar nano-objetos (AFSSAPS, 2011); d) cuja composição indique que produtos de degradação tóxicos possam ser liberados no organismo.

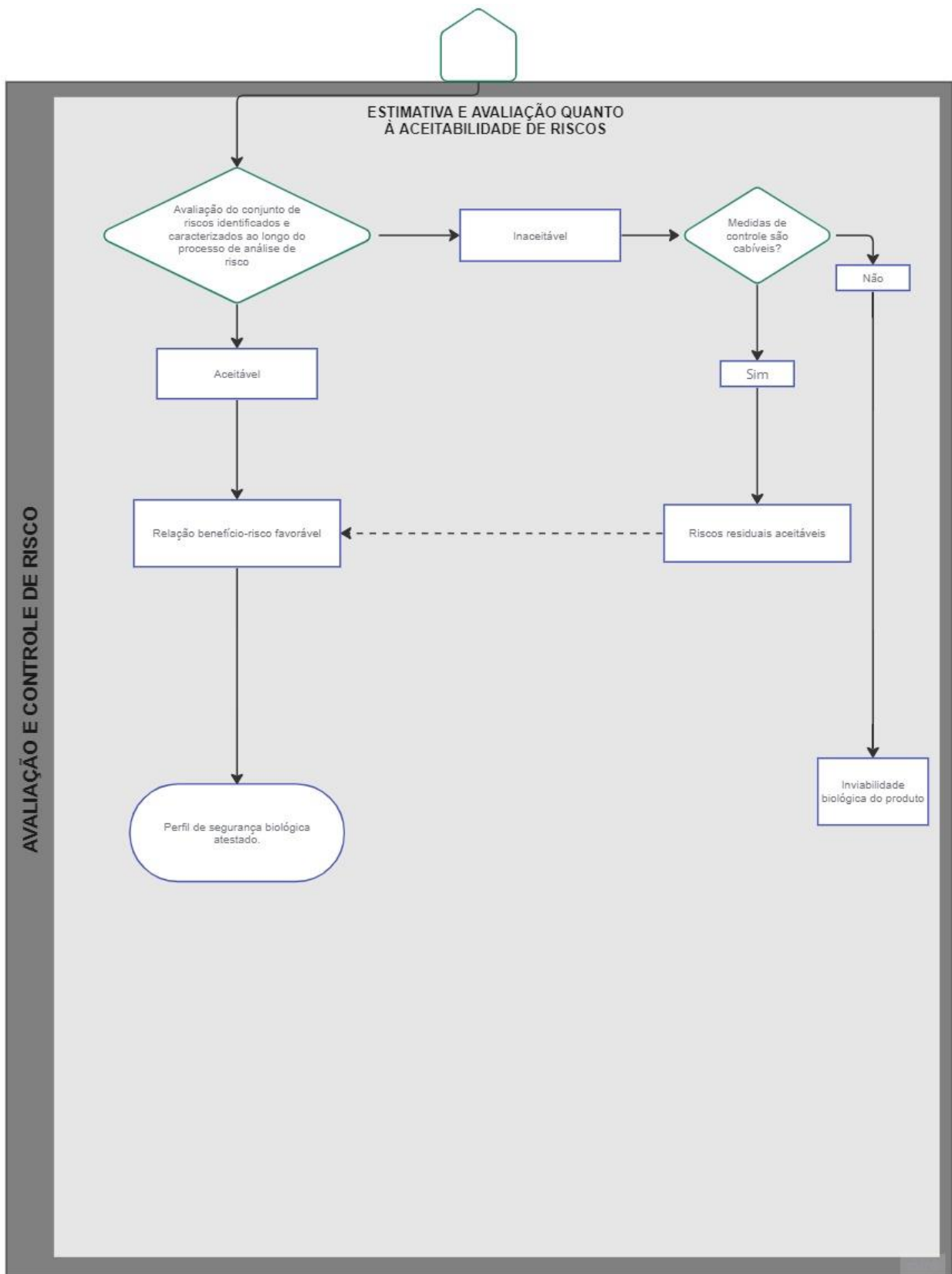
Fonte: Adaptado de MOREIRA (2022).

A representação de todo esse processo de avaliação de segurança biológica descrito até aqui encontra-se resumida no Fluxograma 2, elaborado com o intuito de racionalizar e auxiliar o planejamento da estratégia de testes para avaliação de riscos biológicos de materiais de uso em saúde que contenham, sejam constituídos ou que produzam nanomateriais.

Fluxograma 2 - Avaliação de Segurança Biológica de Materiais de Uso em Saúde que contenham, sejam constituídos ou gerem nanomateriais ou nano-objetos, sob uma perspectiva de Gerenciamento de Risco



miro



NM = nanomaterial

Fonte: Adaptado de MOREIRA (2022).

Cumprido ressaltar que os métodos de teste atualmente empregados para avaliação de toxicidade de nanomateriais são, de forma geral, versões adaptadas de métodos desenvolvidos para análise de substâncias

químicas, e, portanto, interferências podem ocorrer e comprometer sua interpretação. Assim, uma boa compreensão dos ensaios, sobre como eles funcionam e como as nanopartículas [nanomateriais] se comportam no sistema de ensaio e em relação aos parâmetros medidos, mostra-se fundamental à determinação de um plano experimental sistemático e de interpretação adequada dos dados, conforme asseverado por Stone, Johnston e Schins (2009).

Ademais, frente às diferentes aplicações e especificidades físico-químicas inerentes aos diversos tipos de nanomateriais, faz-se oportuno enfatizar a necessidade de avaliações nanotoxicológicas caso a caso, ainda baseadas em metodologias *in vitro* e *in vivo* convencionais adaptadas, devido à indisponibilidade de abordagens preditivas robustas e suficientemente validadas, aplicáveis tanto ao processo de caracterização físico-química e biológica do nanomaterial, como à avaliação de segurança biológica do material de uso em saúde que contenha ou seja constituído por nanomateriais, também baseada em abordagem caso a caso, pela singularidade tecnológica do produto.

Nesses termos, as Diretrizes ora apresentadas devem ser tomadas como orientações, não possuindo, portanto, status normativo ou poder vinculante – motivo pelo qual devem ser consideradas à luz da legislação sanitária vigente aplicável a materiais de uso em saúde, às normas técnicas de referência cabíveis e documentos globalmente harmonizados, caso existentes.

Por fim, cabe mencionar que as considerações até aqui realizadas não são exaustivas. Assim, esclarecimentos e/ou análises adicionais poderão ser requeridas pela autoridade regulatória, mediante ato administrativo próprio devidamente motivado.

## **6.5. Reporte de Informações**

O consolidado dos dados obtidos tanto no processo de caracterização físico-química quanto no de avaliação de segurança biológica, para fins regulatórios, deve ser apresentado sob a forma de relatórios individuais ou como um relatório único, desde que devidamente instruído e subsidiado pelo detalhamento necessário à comprovação de segurança do produto objeto de interesse, conforme o uso pretendido.

Para tanto, descrição detalhada do material de uso em saúde que contenha ou seja constituído por nanomateriais deve ser apresentada. Informações relacionadas ao seu *design* e processamento até a obtenção do produto acabado – tais como desenho e especificações técnicas, estrutura e composição, etapas de manufatura, processamentos e principais controles implementados, inclusive em relação à adição de nanomateriais, além de informações relacionadas à finalidade e uso pretendido do produto devem ser consideradas.



Finda essa exposição introdutória sobre o dispositivo e a tecnologia “nano” a ele incorporada, faz-se oportuno apresentá-la de modo pormenorizado, considerando-se:

- a introdução e o histórico de sua utilização em materiais de uso em saúde (de forma geral e específica, conforme aplicação do produto objeto de interesse);
- forma de apresentação do nanomaterial no dispositivo (livre, fixo ou incorporado a matriz de outro material);
- finalidade e diferenciais/benefícios alcançados pelo seu emprego no produto;
- descrição de sua natureza, constituição, estrutura, composição química/identidade;
- método(s) de síntese aplicado(s) para sua obtenção e presença de eventuais resíduos/impurezas.

Na sequência, apresentação do processo de caracterização das propriedades físico-químicas e/ou morfológicas e topográficas do nanomaterial empregado (conforme aplicável) deve ser realizada, de modo que informações relacionadas aos tópicos abaixo listados sejam contempladas, quais sejam:

- racional para determinação dos atributos avaliados, sua descrição e relevância (em relação ao nanomaterial e sua apresentação no produto em que estará contido);
- preparo da amostra (incluindo a identificação de protocolos aplicados);
- métodos analíticos empregados (escopo em termos de material, intervalo de medição e/ou concentração e incerteza da medição; condições de exposição; descrição do procedimento; justificativa técnica para determinação e escolha de outros métodos complementares à análise do atributo objeto de interesse, caso aplicável);
- resultados obtidos e sua discussão à luz da literatura e de critérios de aceitação estabelecidos, sendo nela também destacados os diferenciais identificados em relação às propriedades “nano” manifestas quando comparadas àquelas observadas no material em macroescala.

Ressalta-se que todas essas informações devem ser consideradas para cada um dos atributos avaliados. Ademais, recomenda-se, conforme disposto pelo documento da Agência Regulatória Francesa (*Agence Nationale de Sécurité du Medicament et des Produits de Santé – ANSM*) que as mensurações sejam realizadas em número de amostras apropriado. Quanto a não avaliação de algum atributo importante, seja por inaplicabilidade ou inviabilidade técnica, essa deve ser justificada sob bases técnico-científicas sólidas.

Cumpra ponderar que a caracterização supra referenciada deve contemplar tanto o nanomaterial original como o nanomaterial disperso em meio biológico relevante, conforme o contexto de aplicação clínica do produto acabado – para que suas identidades sintética e biológica sejam melhor compreendidas e correlacionadas aos achados obtidos na avaliação toxicológica.

Outra etapa importante a ser considerada na documentação atinente à avaliação do nanomaterial utilizado, refere-se a sua triagem toxicológica. A escolha dos testes realizados, bem como identificação/referência do protocolo ou metodologia adotados, descrição do preparo da amostra, definição e justificativa para dose e métrica de dose aplicada, eventuais adequações metodológicas realizadas (acompanhadas de justificativa técnica embasada), bem como considerações relacionadas às limitações do método e a necessária adoção de outra(s) metodologia(s) (baseadas em mecanismos distintos) para avaliação do desfecho toxicológico de interesse deverão ser reportadas.

Quanto à avaliação de segurança biológica do produto acabado, racional para o planejamento e execução dos testes identificados como necessários deve ser apresentado. Para tanto, informações relacionadas à categorização do produto, cenário de exposição (rota de exposição, tecido/fluido em contato, frequência/duração do contato, biodisponibilidade do nanomaterial ou de nano-objetos), e principais achados de sua caracterização (incluindo-se aquela relacionada ao nanomaterial nele contido) deverão ser apresentadas, para que seja possível avaliar a pertinência, aplicabilidade e abrangência da avaliação de segurança biológica conduzida, bem como sua capacidade para identificar e caracterizar riscos relacionados ao nanomaterial contido no produto ou aos nano-objetos dele liberados.

Cada um dos relatórios de teste apresentados deve identificar a norma técnica de referência utilizada, bem como sua versão (se adaptada ou não à avaliação de dispositivos médicos que contenham ou sejam constituídos por nanomateriais) – informação essa diretamente relacionada à metodologia de teste empregada. Para casos em que a norma não tenha sido validada para esse tipo de análise, justificativa técnica para sua utilização, bem como eventuais modificações metodológicas implementadas para contornar possíveis interferências ou artefatos (conhecidos ou identificados) deverão ser explicitadas à luz da literatura corrente.

No que tange à amostra teste utilizada (produto propriamente dito, parte representativa ou solução de extração), essa deve ser identificada e devidamente caracterizada, inclusive quanto ao nanomaterial nela contido. Informações relevantes relacionadas ao procedimento de preparo de amostra; seleção e descrição da dose, bem como justificativa para sua determinação; linhagem celular, tipo de cultura ou modelo animal selecionado; material de referência utilizado; identificação dos controles positivo e negativo adotados; bem como descrição da metodologia implementada, juntamente com a apresentação e discussão dos resultados obtidos devem ser consideradas. Eventuais limitações do método de teste e suas implicações sobre a interpretação dos resultados também deverão ser pontuadas e discutidas à luz da literatura.

Por fim, análise global dos principais achados obtidos nas análises realizadas, respaldada por literatura científica relevante relacionada tanto ao produto objeto de análise (inclusive quanto a sua constituição e características nano-específicas, se disponível), como a dispositivo comparável não constituído por nanomaterial – deve ser realizada, de modo a subsidiar a avaliação dos riscos biológicos identificados quanto a sua aceitabilidade e/ou necessária adoção de medidas de controle, com vistas a garantir a segurança biológica

do material de uso em saúde que contenha, seja constituído ou produza nanomateriais, em seu contexto de utilização clínica. Portanto, demonstração de relação risco-benefício favorável aos benefícios previstos para o referido produto quando comparados aos potenciais riscos residuais mostra-se imperativa à confirmação do seu perfil de segurança toxicológica.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sistematização e harmonização são processos fundamentais à estruturação e consolidação de qualquer conhecimento produzido. Sendo ele dinâmico, complexo e multidisciplinar (tal como ocorre com as áreas da Nanotecnologia, Nanotoxicologia e Nanomedicina) constata-se a necessidade de seu compartilhamento e disseminação, com vistas, não apenas à redução de assimetrias informacionais, mas à viabilização de novos espaços de interlocução e colaboração para o avanço nos âmbitos científico e regulatório, sob bases consistentes e convergentes.

Sob essa perspectiva, o presente guia foi proposto e apresentado, enquanto produto inacabado e, portanto, passível de revisão e aperfeiçoamento, frente ao avanço, amadurecimento e publicização de novos conhecimentos e práticas no âmbito da Nanotecnologia aplicada à área da saúde.

## 8. GLOSSÁRIO

- DISPOSITIVO MÉDICO (produto médico): qualquer instrumento, aparelho, equipamento, implante, dispositivo médico para diagnóstico in vitro, software, material ou outro artigo, destinado pelo fabricante a ser usado, isolado ou conjuntamente, em seres humanos, para algum dos seguintes propósitos médicos específicos, e cuja principal ação pretendida não seja alcançada por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos no corpo humano, mas que podem ser auxiliados na sua ação pretendida por tais meios:

- a) diagnóstico, prevenção, monitoramento, tratamento (ou alívio) de uma doença;
- b) diagnóstico, monitoramento, tratamento ou reparação de uma lesão ou deficiência;
- c) investigação, substituição, alteração da anatomia ou de um processo ou estado fisiológico ou patológico;
- d) suporte ou manutenção da vida;
- e) controle ou apoio à concepção; ou
- f) fornecimento de informações por meio de exame in vitro de amostras provenientes do corpo humano, incluindo doações de órgãos e tecidos. (BRASIL, 2022)

- NANOMATERIAL: material natural, incidental ou manufaturado que contém partículas em estado não ligado ou sob a forma de agregado ou aglomerado, em que 50% ou mais do número de partículas presente

distribuição de tamanho dentro do intervalo de 1 a 100 nm, em uma ou mais de suas dimensões externas, podendo incluir:

a) fulerenos, flocos de grafeno e nanotubos de carbono de parede simples com uma ou mais dimensões externas inferiores a 1 nm também são considerados nanomateriais.

b) materiais manufaturados com dimensões que extrapolem o limite superior da nanoescala (estabelecida entre 1 e 100 nm), até o marco de 1000 nm, e que exibam propriedades ou fenômenos tamanho-dependentes distintos daqueles apresentados pelo mesmo material em macroescala, poderão ser enquadrados na definição de nanomaterial. (BRASIL, 2022)

- NANO-OBJETO: pequena parte/pedaço de material com uma, duas ou três dimensões externas na nanoescala (ISO, 2012).

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AFSSAPS, A. F. DE S. S. DES P. DE S. Biological Assessment of Medical Devices containing Nanomaterials - Scientific Report. France: [s.n.].
2. AKÇAN, R. et al. Nanotoxicity: A challenge for future medicine. *Turkish Journal of Medical Sciences*, v. 50, n. 4, p. 1180–1196, 2020.
3. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 546, de 30 de agosto de 2021. Dispõe sobre os requisitos essenciais de segurança e eficácia aplicáveis aos produtos para saúde. Brasil, 2021.
4. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 751, de 15 de setembro de 2022. Dispõe sobre a classificação de risco, os regimes de notificação e de registro, e os requisitos de rotulagem e instruções de uso de dispositivos médicos. Brasil, 2022.
5. FARIA, M. et al. Minimum information reporting in bio-nano experimental literature. *Nature Nanotechnology*, v. 13, n. 9, p. 777–785, 2018.
6. GEERTSMA, R. E. et al. *Nanotechnologies in Medical Devices*. [s.l.: s.n.]. 2015. Disponível em: <<http://rivm.openrepository.com/rivm/handle/10029/584200#>>
7. GUBALA, V. et al. Engineered nanomaterials and human health: Part 1. Preparation, functionalization and characterization (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, v. 90, n. 8, p. 1283–1324, 2018.
8. HALAMODA-KENZAOUI, B. et al. Anticipation of regulatory needs for nanotechnology-enabled health products - The REFINE White Paper. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2019.
9. ISO. International Organization for Standardization. ISO 10993-17: Biological evaluation of medical devices – Part 17: Establishment of allowable limits for leachable substances. First edition. Geneva, Switzerland. 2002.
10. ISO. International Organization for Standardization. ISO/TR 13121: Nanotechnologies – Nanomaterial Risk Evaluation. Geneva, Switzerland. 2011.
11. ISO. International Organization for Standardization. ISO/TR 13014: Nanotechnologies – Guidance on physico-chemical characterization of engineered nanoscale materials for toxicologic assessment. First edition. Geneva, Switzerland. 2012.
12. ISO. International Organization for Standardization. ISO/TR 16197: Nanotechnologies – Compilation and description of toxicological screening methods for manufactured nanomaterials. Geneva, Switzerland. 2014a.
13. ISO. International Organization for Standardization. ISO 10993-3: Biological evaluation of medical devices – Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity. Third edition. Geneva, Switzerland. 2014b.
14. ISO. International Organization for Standardization. ISO/TS 80004-2: Nanotechnologies – Vocabulary – Part 2: Nano-objects. First edition. Geneva, Switzerland. 2015a.
15. ISO. International Organization for Standardization. ISO/TR 10993-33: Biological evaluation of medical devices – Part 33: Guidance on testes to evaluate genotoxicity – Supplement to ISO 10993-3. First edition. Geneva, Switzerland. 2015b.
16. ISO. International Organization for Standardization. ISO/TR 10993-22: Biological evaluation of medical devices – Part 22: Guidance on nanomaterials. First edition. Geneva, Switzerland. 2017a.
17. ISO. International Organization for Standardization. ISO 10993-4: Biological Evaluation of Medical Devices – Part 4: Selection of Tests for Interactions with Blood. Third Edition. Geneva, Switzerland. 2017b.
18. ISO. International Organization for Standardization. ISO 10993-1: Biological evaluation of medical devices – Part 1: Evaluation and testing within a risk management process. Fifth Edition. Geneva, Switzerland. 2018a.
19. ISO. International Organization for Standardization. ISO 19007: Nanotechnologies – In vitro MTS assay for measuring the cytotoxic effect of nanoparticles. First edition. Geneva, Switzerland. 2018b.
20. ISO. International Organization for Standardization. ISO 14971: Medical devices – Application of risk management to medical devices. Third edition. Geneva, Switzerland. 2019.

21. JONES, C. F.; GRAINGER, D. W. In vitro assessments of nanomaterial toxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 61, n. 6, p. 438–456, 2009.
22. KARAKUS, C. O.; BILGI, E.; WINKLER, D. A. Biomedical nanomaterials: applications, toxicological concerns, and regulatory needs. *Nanotoxicology*, v. 15, n. 3, p. 331–351, 2020.
23. MONTEIRO-RIVIERE, N.A. et al. Limitations and relative utility of screening assays to assess engineered nanoparticle toxicity in a human cell line. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2009, v. 234: 222-235.
24. MOREIRA, C. G. Os Desafios Regulatórios da Avaliação de Segurança Biológica aplicada a Materiais de Uso em Saúde de Base Nanotecnológica: uma Proposição Regulatória sob uma Perspectiva de Risco. *Dissertação (Mestrado em Nanociência e Nanobiotecnologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília. Brasília, p. 233. 2022.*
25. MUSAZZI, U. M. et al. Is the European regulatory framework sufficient to assure the safety of citizens using health products containing nanomaterials? *Drug Discovery Today*, v. 22, n. 6, p. 870–882, 2017.
26. NAVYA, P. N.; DAIMA, H. K. Rational engineering of physicochemical properties of nanomaterials for biomedical applications with nanotoxicological perspectives. *Nano Convergence*, v. 3, n. 1, p. 1–14, 2016.
27. RAMOS, A. P. et al. Biomedical applications of nanotechnology. *Biophysical Reviews*, v. 9, n. 2, p. 79–89, 2017.
28. ROSZEK, B.; JONG, W. H. DE; GEERTSMA, R. *Nanotechnology in Medical Applications: State of the Art in Materias and Devices Nanostructure, Nanosystems, and Nanostructured Materials: Theory, Production and Development. Bilthoven: 2005.*
29. SAIFI, M. A.; KHAN, W.; GODUGU, C. Cytotoxicity of Nanomaterials: Using Nanotoxicology to Address the Safety Concerns of Nanoparticles. *Pharmaceutical Nanotechnology*, v. 6, n. 1, p. 3–16, 2018.
30. SAJI, V. S.; CHOE, H. C.; YEUNG, K. W. K. Nanotechnology in biomedical applications: a review. *Int. J. Nano and Biomaterials*, v. 3, 2010.
31. SCENIHR. *Guidance on the Determination of Potential Health Effects of Nanomaterials Used in Medical Devices. Brussels, Belgium: European Commission, 2015. Disponível em: [https://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/emerging/docs/scenih\\_r\\_o\\_045.pdf](https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenih_r_o_045.pdf)*
32. SHVEDOVA, A. A.; KAGAN, V. E.; FADEEL, B. Close encounters of the small kind: Adverse effects of man-made materials interfacing with the nano-cosmos of biological systems. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v. 50, p. 63–88, 2010.
33. SOLAIMAN, S. M. et al. Nanotechnology and its medical applications: Revisiting public policies from a regulatory perspective in Australia. *Nanotechnology Reviews*, v. 6, n. 3, p. 255–269, 2017.
34. STONE, V.; JOHNSTON, H.; SCHINS, R. P. F. Development of in vitro systems for nanotoxicology: Methodological Considerations. *Critical Reviews in Toxicology*, v. 39, n. 7, p. 613–626, 2009.
35. TANTRA, R. et al. Suitability of analytical methods to measure solubility for the purpose of nanoregulation. *Nanotoxicology*, v. 10, n. 2, p. 173–184, 2016.

**Este documento é resultado da incorporação de proposição regulatória elaborada por servidora lotada na Gerência de Tecnologia de Materiais de Uso em Saúde (GEMAT), em sua dissertação de mestrado, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia da Universidade de Brasília (UnB), como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nanociência e Nanobiotecnologia.**



Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa

SIA Trecho 5, Área Especial 57, Lote 200

CEP: 71205-050

Brasília – DF

[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)

[www.twitter.com/anvisa\\_oficial](https://www.twitter.com/anvisa_oficial)

Anvisa Atende: 0800-642-9782

[ouvidoria@anvisa.gov.br](mailto:ouvidoria@anvisa.gov.br)