

Análise sobre a Resolução da ANVISA, RDC nº 33, que Aprova o Regulamento Técnico para o Funcionamento dos Bancos de Células e Tecidos Germinativos. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 20 de fevereiro de 2006.

“Peer review analysis on ANVISA Resolution – RDC 33 of 20th February 2006, that regulates germinative cells and bank tissues in Brazil.”

Eduardo Pandolfi Passos
Dirceu Henrique Mendes Pereira
Álvaro Petracco
Claudia Petersen

Maria do Carmo Borges de Souza
Péricles Assad Hassun Filho
Carlos Gilberto Almodin
Eduardo Leme Alves da Motta

ABSTRACT

This report represents a peer review on the ANVISA Resolution RDC 33, that regulates germinative cells and bank tissues in Brazil. It points to item 9.4.6 that can originate deleterious effects caused by air vibration over the micromanipulator during ICSI.

Key words: peer review, government regulation, politics.

RESUMO

Este parecer representa uma avaliação especializada sobre a RDC 33 da ANVISA, especificamente quanto ao item 9.4.6, onde a exigência de coifa sobre o micromanipulador durante a ICSI potencialmente pode acarretar efeitos deletérios sobre os embriões.

Palavras chave: comissão de avaliação, regulamentação governamental, políticas.

OBJETIVO

Este relatório tem como objetivo fazer uma análise crítica com respeito ao item 9.4.6 desta resolução que trata do ambiente destinado ao processamento e execução das técnicas que envolve a manipulação de gametas (óvulos e espermatozoides) e embriões no Laboratório de Fertilização *in vitro*.

Recebido em 31/05/07
 Avaliado e aceito 20/06/07

INTRODUÇÃO

Em uma unidade de Reprodução Assistida; pH, temperatura e osmolaridade ótimas no ambiente imediato aos oócitos e embriões (microambiente) estão entre os determinantes de qualidade mais importantes (qualidade: inclui os resultados de nascimentos). Este manuscrito trata especificamente do sub ítem: f.1 que relata a necessidade da colocação de uma cabine de segurança biológica Classe II Tipo A. A colocação desta cabine deve ser feita de tal forma que no seu interior contenha o equipamento para a execução do procedimento da Injeção Intracitoplasmática do Espermatozóide no Oócito (Intracytoplasmic sperm injection-ICSI).

Antes, porém, permita-nos descrever de forma sucinta o procedimento desta técnica para que os senhores tenham uma visão de como este procedimento é altamente delicado e complexo, exigindo equipamentos e profissionais com larga experiência, pois este processo não deve demandar mais que 1-2 minutos.

O local de trabalho para a execução da técnica de ICSI compreende um microscópio invertido acoplado com micromanipuladores (*workstation*) que permitem a aspiração de um único espermatozóide para dentro de uma micropipeta com diâmetro de 1/10 de um fio de cabelo. Esta micropipeta é inserida através da zona pelúcida alcançando o citoplasma do oócito, onde o espermatozóide é depositado. Por outro lado o oócito permanece imóvel pois este é seguro por outra micropipeta de diâmetro um pouco maior. Todo este processo é realizado em um microambiente controlado pois é realizado sob óleo, aumentando assim o controle da temperatura, como também servindo como uma barreira do ar.

A) Análise Crítica (Laboratório de Reprodução Assistida):

Para a realização da ICSI são fundamentais dois fatores:

- 1) **Controle da temperatura**, pois se houver um pequeno resfriamento no microambiente, que deve estar a 37°C, haverá um comprometimento do fuso meiótico e despolimerização do citoesqueleto do oócito, acarretando baixa taxa de fertilização, aumento das taxas de embriões aneuploides (número alterado de cromossomos) e conseqüentemente redução das taxas de gestação, aumento das falhas de FIV e de abortos. O aumento do volume de fluxo de ar criado pela cabine pode diminuir a temperatura do microambiente, mesmo contando com sofisticados sistemas de placas aquecidas.
- 2) **Controle da qualidade do ar**. Para que o procedimento fosse realizado dentro de um ambiente com fluxo laminar de ar, a cabine deveria realmente acrescentar vantagens. Entretanto, há uma série de limitações que atualmente impedem o uso deste equipamento, acarretando mais problemas do que soluções, dentre estas limitações destacam-se:
 - 2.1- **Vibração**: a vibração de tais cabinets impede que o procedimento da ICSI seja realizado com acurácia e a velocidade necessárias para que não haja comprometimento do oócito e do futuro embrião (descrito anteriormente). Atualmente as cabines classe I (mais modernas), ou mesmo os de classe II como por exemplo o K-Systems (Birkerød, Dinamarca) não permitem que o procedimento da ICSI seja realizado de forma eficiente, pois não é possível instalar uma plataforma anti-vibração.
 - 2.2- **Temperatura**: o aumento do volume de fluxo de ar criado pelo sistema pode diminuir a temperatura do microambiente (descrito anteriormente).
 - 2.3- **Interrupção do Fluxo laminar do ar**: tanto os braços do operador, quanto o próprio equipamento impedem a formação do fluxo laminar de ar.
- 3) **Compostos Orgânicos Voláteis (COV)**: adicionalmente, o que esta resolução ignora, e que a maioria dos embriologistas sabem – é a questão dos COV que contaminam o laboratório de FIV e as incubadoras. É bem estabelecido que estes compostos são a principal fonte de contaminação e possuem um efeito altamente negativo sobre os oócitos e embriões; o que esta resolução não especifica. Porém, atualmente, a maioria das clínicas possuem filtros HEPA e filtros específicos para filtrar os COV. Conseqüentemente, estes laboratórios já possuem alta qualidade do ar, inclusive superando a maioria das salas cirúrgicas dos hospitais.

CONCLUSÃO

O resfriamento e a pressão dos gases proveniente do fluxos de ar da cabine tem o potencial de causar efeitos deletérios sob os oócitos e embriões.

Além destes itens expostos, o fluxo laminar vertical proposto, teria também a finalidade de proteção aos operadores envolvidos na micromanipulação dos gametas/embriões. Contudo, é necessário salientar que tais células/embriões já não possuem mais material potencialmente contaminante, pois foram previamente processados (lavados e isolados dos fluidos corpóreos a

que pertenciam), encontra-se neste instante em meio de cultivo sintético e separados do meio externo por uma camada de óleo mineral estéril, como isolante. Assim, demonstra-se que além dos potenciais danos biológicos ao embrião mencionados, não existe proteção adicional aos operadores deste instrumento e ao microambiente das amostras.

B) Análise Crítica (referência bibliográfica e agências reguladoras):

Adicionalmente, realizamos uma ampla e detalhada pesquisa na literatura mundial, como também nos órgãos e agências reguladoras da Europa, Estados Unidos e do Reino Unido, que tratam especificamente das tecnologias envolvidas em Reprodução Assistida. Dentre as Principais Agências Reguladoras não encontramos de forma direta ou indireta a imposição da colocação de tais cabines nas estações de trabalho para a realização da técnica da ICSI:

1- **The American Association of Tissue Banks:**

Standards for Tissue Banking. The American Association of Tissue Banks, McLean, Virginia, 1996.

2- **European Union Tissues and Cells Directive:**

A critical assessment of the impact of the European Union Tissues and Cells Directive (2004) on laboratory practices in assisted Conception. Reproductive BioMedicine Online; vol. 11, n.2, 2005.

3- **American Society for Reproductive Medicine (ASRM):**

The American Society for Reproductive Medicine. Revised Minimum Standards for In Vitro Fertilization, Gamete Intrafallopian Transfer, and Related Procedures. Fertility and Sterility 1998; 70 (Suppl 2) :1S-5S.

4- **Centers for Disease Control and Prevention (CDC):**

Centers for Disease Control and Prevention. Reporting of Pregnancy Success Rates from Assisted Reproductive Technology Programs. 62 FR 45259, Aug. 26, 1997.

Centers for Disease Control and Prevention. Implementation of the Fertility Clinic Success Rate and Certification Act of 1992; Proposed Model Program for the Certification of Embryo Laboratories.

5- **The College of American Pathologists:**

The College of American Pathologists/American Society for Reproductive Medicine Reproductive Laboratory Accreditation Program. The College of American Pathologists, Northfield, Illinois, 1996.

6- **The Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA):**

The Human Fertilisation and Embryology Authority; 6th Edition; First; Copyright HFEA 2003.

7- **Food and Drug Administration (FDA):**

A nova resolução para bancos de tecidos (FDA-2004), não inclui nenhuma especificação com relação a qualidade do ar, porém item 195 relata que os centros devem ter um “controle” adequado do ambiente. Ou seja, deve ter o controle da temperatura, umidade, ventilação e filtração do ar com inspeção periódica para verificar se os sistemas são adequados e se funcionam apropriadamente. Uma vez que a regulamentação do

FDA é "process-based", não é prospectivo, o banco de tecido tem que provar, via mensurações objetivas e com dados, se seus sistemas cobrem os objetivos e necessidades do laboratório.

Food and Drug Administration 2004 21 CFR Parts 16, 1270, and 1271. Current Good Tissue Practice for Human Cell, Tissue and Cellular and Tissue-Based Product Establishments; Inspection and Enforcement; Final Rule. Federal Register 69 (226), 68611-68688.

CONCLUSÃO

A implementação de tais equipamentos (cabine de segurança biológica Classe II Tipo A) não melhora as condições de segurança (objetivo desta normativa). Ao contrário, aumenta os riscos de produzir embriões alterados e consequentemente reduzir as taxas de gestação. Nós não recomendamos a instalação destas cabines nos equipamentos da ICSI (*workstation*).

O impacto desta Resolução, especificamente o sub-ítem f.1, como discutido anteriormente, só pode ser visto negativamente. As consequências na qualidade embrionária, no potencial de implantação e nas taxas de sucesso clínico, terão um efeito adverso. Certamente este não é o objetivo desta resolução, que busca: "Promover o nível mais alto de proteção para salvaguardar a Saúde Pública em relação a qualidade e segurança de tecidos e células".

REFERÊNCIAS

- The American Association of Bioanalysts. Embryology and Andrology Review Course. American Association of Bioanalysts, St. Louis, Missouri, 1994.
- The American Association of Tissue Banks. Standards for Tissue Banking. The American Association of Tissue Banks, McLean, Virginia, 1996.
- The American Society for Reproductive Medicine. Revised Minimum Standards for In Vitro Fertilization, Gamete Intrafallopian Transfer, and Related Procedures. *Fertility and Sterility* 1998; 70 (Suppl 2) :1S-5S.
- European Union Tissues and Cells Directive. A critical assessment of the impact of the European Union Tissues and Cells Directive (2004) on laboratory practices in assisted Conception. *Reproductive BioMedicine Online*; vol. 11, n.2, 2005.
- Association of Clinical Embryologists. Accreditation Standards and Guidelines for IVF Laboratories. Association of Clinical Embryologists, London, England, 1996.
- California Health and Safety Code, Division 2, Chapter 4.1-Tissue Banks. State of California, Department of Health Services, Berkeley, California, 1992.
- Centers for Disease Control and Prevention. Reporting of Pregnancy Success Rates from Assisted Reproductive Technology Programs. 62 FR 45259, Aug. 26, 1997.
- Centers for Disease Control and Prevention. Implementation of the Fertility Clinic Success Rate and Certification Act of 1992; Proposed Model Program for the Certification of Embryo Laboratories. 63 FR 60178, Nov. 6, 1998.
- Code of Federal Regulations, Title 42, Chapter IV, Part 493--Laboratory Requirements.
- The College of American Pathologists/American Society for Reproductive Medicine Reproductive Laboratory Accreditation Program. The College of American Pathologists, Northfield, Illinois, 1996.
- The Fertility Clinic Success Rate and Certification Act of 1992 (Public Law 102-493).
- Guidance for Industry, Public Health Issues Posed by the Use of Nonhuman Primate Xenografts in Humans. Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research, April, 1999.
- Keel BA and BW Webster. CRC Handbook of the Laboratory Diagnosis and Treatment of Infertility. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1990.
- Rules and Regulations of the State of New York, Part 52 of Title 10 (Health). Tissue Banks and Non-transplant Anatomic Banks. State of New York Department of Health, Albany, New York, 1992.
- Senate Report 102-452 on H.R. 4773. Fertility Clinic Success Rate and Certification Act of 1992. 102d Congress, 2d Session, 1992.
- Survey of Assisted Reproductive Technology Embryo Laboratory Procedures and Practices. www.phppo.cdc.gov/dls/pdf/art/ARTsurvey.pdf.
- Veeck LL. The Gamete Laboratory: Design, Management and Techniques. pp. 798--820 in: *Infertility: Evaluation and Treatment*. Edited by WR Keye, RJ Chang, RW Rebar and MR Soules. WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, 1995.
- A critical assessment of the impact of the European Union Tissues and Cells Directive (2004) on laboratory practices in assisted Conception. *Reproductive BioMedicine Online*; vol. 11, n.2, 2005.
- The Human Fertilisation and Embryology Authority Paxton House, 30 Artillery Lane, London E1 7LS, UK Tel: 020 7377 5077 Fax: 020 7377 1871; 6th Edition; First; Copyright © HFEA 2003
- Food and Drug Administration 2004 21 CFR Parts 16, 1270, and 1271. Current Good Tissue Practice for Human Cell, Tissue and Cellular and Tissue-Based Product Establishments; Inspection and Enforcement; Final Rule. Federal Register 69 (226), 68611-68688.