

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
CURSO DE FARMÁCIA

Graciela Gomes

**Ferramentas para avaliação do nível de evidência para estudos pré-clínicos em
modelos animais**

Florianópolis

2022

Graciela Gomes

**Ferramentas para avaliação do nível de evidência para estudos pré-clínicos em
modelos animais**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Izabel Galhardo Demarchi

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Gomes, Graciela
Ferramentas para avaliação do nível de evidência para
estudos pré-clínicos em modelos animais / Graciela Gomes ;
orientadora, Izabel Galhardo Demarchi, 2022.
53 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Nível de evidência. 3. Revisão
sistemática. 4. Risco de viés. I. Galhardo Demarchi,
Izabel . II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Graduação em Farmácia. III. Título.

Graciela Gomes

**Ferramentas para avaliação do nível de evidência para estudos pré-clínicos em
modelos animais**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Farmacêutica e aprovado em sua forma final pelo Curso de Farmácia.

Florianópolis, 29 de julho de 2022.

Prof^a. Dr^a. Liliete Canes Souza Cordeiro
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Izabel Galhardo Demarchi
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof^a Dra. Iara Fabricia Kretzer
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof. Dr. Eduardo Monguilhott Dalmarco
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Florianópolis, 2022

Dedico este trabalho a minha família, amigos e especialmente ao meu namorado Ado Dalla Costa que foi maior alicerce, nesta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a existência da UFSC, foi ela quem me permitiu trilhar este caminho e chegar até aqui. Foram longos 5 anos de lutas, de várias recaídas e vontade de desistir, mas também foram anos de amadurecimento, crescimento pessoal e de um conhecimento que vai me permitir ter um futuro melhor. Gostaria de agradecer imensamente minha família, meu pai Miguel, minha mãe Mareni, meus irmãos, Karine, Kristiane e Alex, aos meus sobrinhos Kauan, Sofia e Gustavo Henrique, sem vocês minha jornada seria outra. Meus cunhados e cunhada, vocês também são especiais para mim.

Gratidão a Pamela Kroth e a Taynara Cipriano, que trio nós fomos! Três personalidades completamente diferentes, mas que juntas formaram o trio perfeito. Obrigada por serem as minhas irmãs de faculdade, vocês foram fundamentais na minha formação e eu espero que a vida nos permita morar perto para aproveitarmos mais a companhia uma da outra.

Minha querida amiga Bárbara Breger, você foi a pessoa que mais me trouxe paz, você é um ser iluminado e eu lamento por só ter me aproximado de você no estágio, mas a vida é assim, as pessoas aparecem na nossa vida no momento certo, onde elas farão a diferença.

Não posso citar todos os nomes que gostaria, mas em agradecimento geral, cada pessoa que cruzou meu caminho deixou um pouco de si e sem dúvida foram importantes para me tornar quem sou hoje.

Gratidão aos meus amigos que eu amo demais, Jakelyne e o Vitor, minha vida com vocês é mais feliz.

Meu agradecimento mais especial de todos é para alguém que esteve comigo desde o primeiro momento e está até hoje, meu namorado Ado. Eu me sinto abençoada por ter você na minha vida. Que presente você foi pra mim! Obrigada por sempre me ouvir, por estar sempre ao meu lado, por estudar comigo, por me apoiar. Que a vida seja linda pra você e que eu esteja bem pertinho, sempre, para viver isso contigo.

Agradeço a minha banca por aceitar este desafio e a minha orientadora Izabel que foi fundamental para construção deste trabalho.

“Tudo vale a pena se a alma não é pequena” (FERNANDO PESSOA, 1922)

RESUMO

A avaliação do nível da evidência tem sido cada vez mais requisitada no campo da experimentação animal para a recomendação do uso de novas substâncias e para a pesquisa de patogenicidade. Atualmente, existem inúmeras publicações de estudos experimentais utilizando modelos animais, tornando fundamental a síntese dessas informações e avaliação da qualidade dos estudos realizados. Na prática clínica, é comum a utilização de revisões sistemáticas e guias que realizam essa avaliação de maneira criteriosa e rigorosa. Em estudos em seres humanos, é recomendada a utilização do GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation). Para animais, as estratégias de avaliação da evidência ainda estão sendo desenvolvidas ou em processo recente de utilização. Por isso, no presente estudo, o objetivo foi descrever as ferramentas disponíveis para avaliação do nível da evidência em estudos pré-clínicos em modelos animais. Para a síntese narrativa, incluímos *guidelines* e revisões sistemáticas. A ferramenta mais utilizada nos estudos secundários para avaliação da evidência de estudos pré-clínicos em animais tem sido o GRADE, no qual se avalia cinco critérios principais para cada desfecho investigado: risco de viés, inconsistência, evidência indireta, viés de publicação, imprecisão e outros. Após avaliação dos estudos de acordo com o desfecho, o nível da evidência de todos os estudos agrupados pode ser classificado em alta, moderada, baixa ou muito baixa, indicando se a estimativa do efeito é próxima da realidade e se há a necessidade ou não de mais pesquisas sobre o assunto. Para avaliação do risco de viés de estudos pré-clínicos tem sido utilizado o SYRCLE e OHAT que seguem as diretrizes da Cochrane. Observa-se, que as ferramentas utilizadas para seres humanos, têm sido adaptadas para os estudos pré-clínicos, e sugere-se que o GRADE seja sistematicamente utilizado nas revisões sistemáticas e guias para os estudos pré-clínicos.

Palavras-chave: Nível de evidência. Revisão sistemática. Risco de viés.

ABSTRACT

The assessment of the level of evidence has been increasingly requested in the field of animal experimentation for the recommendation of the use of new substances and pathogenicity research. Nowadays, there are numerous publications of experimental studies using animal models, making it essential to synthesize this information and assess the quality of the studies performed. In clinical practice, it is common to use systematic reviews and guides that carry out this evaluation judiciously and rigorously. In human studies, the use of GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation) is recommended. For animals, evidence assessment strategies are still being developed or are in the recent process of use. Therefore, in the present study, the objective was to describe the tools available to assess the level of evidence in preclinical studies in animal models. For narrative synthesis, we included guidelines and systematic reviews. The tool most used in secondary studies to assess the evidence of preclinical studies in animals has been GRADE, in which five main criteria are evaluated for each investigated outcome: risk of bias, inconsistency, indirect evidence, publication bias, imprecision, and others. After evaluating the studies according to the outcome, the level of evidence of all the grouped studies can be classified as high, moderate, low, or very low, indicating whether the estimate of the effect is close to reality and whether or not there is a need for further research on the subject. To assess the risk of bias in pre-clinical studies, SYRCLE and OHAT have been used, following the Cochrane guidelines. It is observed that the tools used for human beings have been adapted for pre-clinical studies, and it is suggested that GRADE be systematically used in systematic reviews and guides for pre-clinical studies.

Keywords: Level of evidence. Systematic review. Risk of bias.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma de quatro etapas	27
Figura 2 - Pirâmide da Evidência Revisada.....	29
Figura 3 - Gráfico de estimativa de precisão	33
Figura 4 - Importância dos desfechos para avaliar os efeitos de intervenções multifacetadas na segurança cirúrgica	34
Figura 5 - Diagrama do ECCR	37
Figura 6 - Exemplo de gráfico de risco de viés de uma revisão sistemática.	39

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Etapas de uma revisão sistemática	27
Quadro 2 - Graduação dos níveis de evidência pelo GRADE	36
Quadro 3 - Ferramenta do SYRCLE para avaliar o risco de viés	40
Quadro 4 - Classificação do risco de viés da ferramenta OHAT	43
Quadro 5 - Ferramentas para avaliação da qualidade metodológica ou risco de viés, conforme o tipo de revisão sistemática e desenho dos estudos incluídos	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Itens do <i>checklist</i> a serem incluídos no relato de revisão sistemática ou meta-análise.....	26
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMSTAR	Assessment of Multiple Systematic Reviews
BPL	Princípios de Boas Práticas de Laboratório
BRISA	Iniciativa Brasileira de Reprodutibilidade em revisão sistemática pré-clínica e Meta-análise
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
FDA	Food and Drug Administration
GIN	Rede Internacional de Diretrizes Clínicas
GRADE	Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation
INAHTA	Rede Internacional de Avaliação de Tecnologias em Saúde
MCTI	Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações
NHI	National Institutes of Health
NICE	National Institute for Health and Clinical Excellence
NOS	Newcastle- Ottawa Scale
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development (Organização para Cooperação e Desenvolvimento da Economia)
OHAT	Risk of Bias Rating Tool
OMS	Organização Mundial da Saúde
PRISMA	Transparent Reporting of SYstematic Reviews and Meta-analyses
QUORUM	Qualidade dos Relatos de Meta-análises
RS	Revisão Sistemática

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	OBJETIVOS	19
1.1.1	OBJETIVO GERAL	19
1.1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
2	METODOLOGIA	19
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
3.1	MODELOS ANIMAIS EM EXPERIMENTAÇÃO.....	20
3.2	ESTUDOS NÃO CLÍNICOS DE TOXICOLOGIA E SEGURANÇA FARMACOLÓGICA DA ANVISA.....	22
3.3	ESTUDOS DE INTERESSE PARA A AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA FARMACOLÓGICA.....	23
3.4	NÍVEL DE EVIDÊNCIA	24
3.4.1	Fatores que diminuem a qualidade da evidência	30
3.4.2	Fatores que aumentam a qualidade da evidência	33
3.5	FORÇA DE RECOMENDAÇÃO.....	36
3.6	FERRAMENTA DE AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DA COCHRANE (ROB TOOL) 36	
3.7	SYRCLE.....	39
3.8	OHAT	42
3.9	FERRAMENTAS DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA	44
4	CONCLUSÃO	46
5	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A experimentação animal significa a utilização de animais como porcos, ratos, coelhos, camundongos, peixes, macacos, equinos, entre outros, para a experimentação de novos fármacos, imunobiológicos ou estudo de patogenicidade dos microrganismos. Os modelos animais são definidos como modelos não humanos, escolhidos a partir de suas características para fins de experimentação, teste ou ensino (NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE, [s.d]). E são padronizados nos laboratórios de pesquisa e desenvolvimento de acordo com as normas vigentes em seus países de origem e órgãos regulamentadores (*Food and Drug Administration*, FDA, EUA).

A regulamentação da experimentação animal é realizada por instâncias governamentais e no Brasil, existe o MCTI que tem como principais ações a formulação de normas relativas ao uso de animais em ensino e pesquisa, monitoramento e avaliação da introdução de técnicas alternativas que substituam a utilização de animais. Além de credenciar e estabelecer normas técnicas para instalação e funcionamento de centros de criação, de biotérios e de laboratórios de experimentação animal (BRASIL, 2008; 2009).

A utilização de animais para experimentação permitiu o avanço científico no desenvolvimento de métodos de diagnóstico, tratamento e imunização para doenças humanas e de animais. A partir destes modelos, tem sido possível a identificação de mecanismos celulares e moleculares fundamentais para a compreensão da patogênese de doenças (LIU; LOS SANTOS; PHAN, 2017) e mecanismos de ação de fármacos, pesquisa de toxicidade e outros. Ainda, permite o desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas adaptadas do animal para o homem, como a traqueoscopia realizada em cabras por Ibn Zuhr no século XVII. Historicamente, um dos maiores marcos foi o desenvolvimento de antibióticos e vacinas, a exemplo, o imunobiológico contra a poliomielite desenvolvida a partir da utilização dos macacos, descoberta por Albert Sabin. Destaca-se também o uso da insulina inicialmente testada em camundongos e ratos geneticamente modificados na década de 1920, e posteriormente em cães (ROBINSON *et al.*, 2019). Nota-se que, os modelos animais permitiram contribuições inquestionáveis para a saúde humana.

Outra contribuição para a experimentação científica, são as propostas de opções alternativas para substituição animal, o que representa um ganho substancial

na ciência aliado à redução da utilização das espécies. A cultura de células é muito empregada na compreensão da patogênese das infecções (KENDALL *et al.*, 2018). Modelos de computador, podem ser usados para programação e projeção de medicamentos prevendo possíveis efeitos biológicos e tóxicos promovendo ou descartando como potencial candidato a novos fármacos (DOKE; DHAWALE, 2015).

Para que a experimentação desses modelos continue sendo usada de forma consciente e cuidadosa, é necessário estabelecer normas para o uso e bem-estar animal, realizar o controle e fiscalização. No Brasil, a Lei Federal nº 11.794/08, conhecida pela Lei Arouca, sancionada em 8 de outubro de 2008, tem como função estipular limites na realização dos experimentos e na utilização de animais nas pesquisas científicas, assegurar o mínimo de conforto e higiene nos ambientes e amparar os animais (DALBEN; EMMEL, 2013).

Em 1959, um marco importante em defesa aos animais e utilização consciente emergiu por Russel e Burch, a partir da publicação do livro *“The Principles of Humane Experimental Technique”*, conhecido atualmente como as diretrizes internacionais “3R”: *replacement* (substituição), *reducement* (redução) e *refinement* (refinamento). (TANNENBAUM; BENNETT, 2015). Essas diretrizes constituem os princípios éticos do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). Percebe-se com isso que existe uma preocupação e compromisso com a ética na experimentação das espécies, por isso os pesquisadores devem assegurar as experimentações a fim de obter as melhores evidências.

Os desenhos de um projeto de experimentação e demais etapas do processo de pesquisa muitas vezes são enviesados comprometendo a qualidade e evidência do estudo. Ainda, podem implicar na falta de confiabilidade nos resultados e conseqüentemente afetar o uso racional dos animais. Uma pesquisa quando bem desenhada e definida, permite a reprodutibilidade dos resultados, diminui os custos, elimina vieses e permite um uso mais apropriado dos modelos animais (AGUILAR-NASCIMENTO, 2005).

Na indústria, bem como na academia, as decisões são baseadas em evidências, e a tradução de pesquisas pré-clínicas podem ser facilitadas pela RS (HOOIJMANS *et al.*, 2014; NC3Rs, [s.d.]). A RS é um método de pesquisa científica que reúne os resultados dos estudos primários a partir da elaboração de uma pergunta específica, utilizando métodos sistemáticos para agrupar as informações, avaliar criticamente a qualidade da evidência (CANTO *et al.*, 2020). Quanto melhor for o

desenho do estudo, melhor a evidência e mais fortes são os resultados. Na pirâmide da pesquisa em seres humanos, tem-se diretrizes e princípios metodológicos bem definidos para a avaliação do nível de evidência, estão publicados na literatura pelas revisões sistemáticas há alguns anos (GUYATT *et al.*, 2011, 2013; HIGGINS *et al.*, 2019; SCHÜNEMANN *et al.*, 2013). No entanto, para as pesquisas em animais, as ferramentas para a avaliação do nível de evidência nas RS, ainda estão sendo desenvolvidas ou estão sendo pouco aplicadas (NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM *et al.*, 2015; ROONEY *et al.*, 2014). A maioria dos protocolos de avaliação do nível da evidência utilizados para animais são ferramentas baseadas nos estudos em seres humanos da Cochrane (HIGGINS *et al.*, 2011, 2019), e a estratégia adotada tem sido o GRADE.

O uso do GRADE permite a verificação do nível da evidência em quatro categorias: alta, moderada, baixa e muito baixa. Sendo que para a avaliação é preciso levar em consideração o risco de viés dos estudos agrupados na revisão, as inconsistências nos resultados, evidência indireta, viés de publicação, entre outros. Atualmente, tem sido amplamente recomendada a avaliação do nível da evidência em RS de estudos pré-clínicos (HIGGINS *et al.*, 2019). Mas, observa-se uma escassa utilização destas ferramentas nas revisões sistemáticas de modelos animais publicadas, e ainda existe um grande viés de publicação destes tipos de estudos. Também a variedade de protocolos e diretrizes estabelecidas por diferentes países dificulta a tomada de decisão e utilização destes estudos na prática clínica (WEI *et al.*, 2016).

Nos países da Europa como Inglaterra, Holanda, Alemanha, entre outros e nos Estados Unidos, as ações decisórias são baseadas em evidências, principalmente, nos centros governamentais de saúde (*National Health Institute*, NIH). Desde 2003, a OMS recomenda a utilização de RS (preferencialmente no modelo Cochrane), como parte do processo de produção das suas publicações (WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.*, 2003). Em 2007, pesquisadores observaram a escassa utilização das RS para os protocolos e diretrizes clínicas e a OMS publicou um novo manual (OXMAN; LAVIS; FRETHEIM, 2007). Não alcançando o impacto desejado, em 2012, houve uma atualização deste manual que foi instituído internacionalmente (WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.*, 2014). Em 2015, no Brasil, o Ministério da Saúde incorporou as recomendações para a utilização da análise baseada em evidência para a elaboração dos documentos clínicos, à Lei 12.401/2011 que altera a

Lei Orgânica da Saúde 8.080/1990 que regulamenta o Sistema Único de Saúde do país (BRASIL, 2015). Nesse documento, as diretrizes internacionais foram utilizadas como referência, no entanto, não se têm disponível sobre a utilização de estudos pré-clínicos primários e secundários para a prática clínica.

As RS com estudo de animais, fornece evidências de seu impacto nos resultados experimentais e futuros ensaios clínicos. Ainda são consideradas ferramentas para melhorar a validade interna, a qualidade dos relatórios e reduzir o viés de publicação (NC3Rs, [s.d]). Em 2021, alguns pesquisadores brasileiros estabeleceram parceria com instituições internacionais a fim de ampliar a utilização da saúde baseada em evidência e a experimentação animal. Essa iniciativa é conhecida como BRISA que visa incentivar a aplicação de revisões sistemáticas e meta-análises para a contribuição científica brasileira (BRISA, 2018). Os estudos experimentais utilizando modelos animais são indispensáveis para a descoberta, desenvolvimento e liberação de produtos para o uso humano e é um recurso utilizado há muito tempo, porém que carece de um delineamento, critérios e padronização para a produção de evidência com qualidade. Os países e agências governamentais possuem regulamentos que controlam a experimentação e uso de animais de laboratório e anualmente, são publicados milhares de artigos originais de pesquisa em animais. Ainda, observa-se a escassa publicação de RS e de qualidade aplicadas aos estudos originais pré-clínicos. Atualmente, temos ferramentas para avaliação do nível de evidência em seres humanos que são consideradas essenciais para a elaboração de protocolos e diretrizes clínicas, ou até mesmo para a liberação e utilização de fármacos, por exemplo. A maioria dessas foram desenvolvidas por instituições internacionais, sendo escassas as publicações em português sobre o tema. Neste estudo, pretendemos realizar uma revisão narrativa para descrever sobre o nível de evidência na experimentação animal em português, e promover maior acessibilidade a nossa comunidade. A revisão narrativa, não exige critérios explícitos e sistemáticos durante a realização da pesquisa. Não exige a busca completa e exaustiva das fontes informativas, nem uma busca sofisticada. A seleção das publicações, bem como a interpretação das informações estão sujeitas a subjetividade dos autores. Atendem critérios para a fundamentação teórica de artigos, teses, dissertações e trabalhos de conclusão de cursos (MATTOS, 2015). Neste projeto, pretendemos realizar uma revisão narrativa da literatura sobre as ferramentas e processos de avaliação do nível

da evidência de estudos experimentais em modelos animais (de intervenção e patogenicidade).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão narrativa sobre as ferramentas de avaliação do nível de evidência dos estudos experimentais em animais.

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Conceituar os tipos de estudos em modelos animais;
2. Identificar as ferramentas utilizadas para avaliação do nível da evidência aplicadas para modelos animais;
3. Descrever os domínios a serem avaliados pelo GRADE para estudos pré-clínicos.

2 METODOLOGIA

Este estudo trata-se de uma revisão narrativa da literatura. A pergunta científica elaborada foi “Quais são as ferramentas e como é realizada a avaliação do nível da evidência para estudos experimentais *in vivo*?”. Essa questão foi estruturada com base no acrônimo PICOS, ou seja, na população (animais), intervenção/exposição (substâncias testes/exposição a patógenos), e no resultado (nível da evidência) (HIGGINS *et al.*, 2011). As buscas foram realizadas na base de dados eletrônica do PubMed (NIH dos EUA, Medline) utilizando a combinação booleana de descritores em ciências da saúde e palavras (termos livres), como por exemplo, “*animals models AND evidence level*”. Foram recuperados artigos completos sobre o tema, e professores experts no assunto foram consultados para indicação de referências bibliográficas sobre o assunto. Os resultados foram sintetizados de forma narrativa contextualizando a problemática e a solução proposta.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, para alcançar os objetivos propostos, a síntese narrativa foi desenvolvida a partir da contextualização dos modelos animais, seguido da descrição das principais ferramentas de avaliação do nível da evidência.

3.1 MODELOS ANIMAIS EM EXPERIMENTAÇÃO

Os modelos animais fazem parte dos estudos pré-clínicos, os quais são utilizados para descobrir ou confirmar os efeitos farmacológicos e identificar os efeitos tóxicos de medicamentos e imunobiológicos em experimentação, que podem ser realizados *in vivo*, *in vitro* e em *ex vivo*. O modelo *in vivo*, refere-se a ensaios farmacológicos feitos em animais vivos ou em humanos, sob condições ambientais controladas, sendo geralmente este um laboratório fechado, enquanto um modelo *ex vivo*, utiliza-se de tecidos de um organismo para realização de ensaios e é feito em um ambiente externo e com alteração mínima das condições naturais. Modelos *in vitro*, são os realizados dentro de recipientes, comumente vidros, ou seja, é fora do organismo vivo, a exemplo disso, são os ensaios realizados em culturas de células (informação verbal).¹

Um modelo animal, assim se define, porque permite a utilização de um outro organismo que, quando submetido a um estudo, apresenta comportamento similar, por exemplo, um animal cuja doença se desenvolva com mecanismos patológicos suficientemente próximos daqueles de uma doença humana. Para tanto, este modelo animal deve permitir a avaliação de fenômenos biológicos naturais, comportamentais ou induzidos, com o objetivo em questão, quando comparados com os fenômenos humanos (FERREIRA; HOCHMAN; BARBOSA, 2005).

¹ Texto adaptado de Ensaios Pré-clínicos (Módulo 4 – Desenvolvimento tecnológico em fitomedicamentos) do curso de Introdução à Gestão da Inovação em Medicamentos da Biodiversidade, Campus Virtual Fiocruz [s.d.]. Disponível em: https://mooc.campusvirtual.fiocruz.br/rea/medicamentos-da-biodiversidade/ensaios_prclinicos.html#t31ad9d85-4ef2-f81c-ea6c-36f8343b34bc. Acesso em: 10 jul. 2022.

A partir dos anos 1872, os modelos animais têm sido desenvolvidos para estudo das causas, mecanismos e formas de tratamento das doenças humanas. São frequentemente descritos na literatura médica quatro principais tipos: induzido, espontâneo, negativo e modelo órfão, sendo os o induzido e o espontâneo os mais importantes.

Subentende-se como modelo induzido aquele na qual uma situação é induzida, a fim de observar um resultado ou algo que se deseja investigar, pode-se citar como exemplo, a indução do diabetes mellitus com aloxano ou hepatectomia parcial, onde se aplica com o intuito de acompanhar e estudar regeneração hepática (Carvalho *et al*, 2003). O Modelo espontâneo, faz uso de variantes genéticas que naturalmente ocasionam as doenças, como é o caso do modelo mutante natural, “camundongo nude” importantíssimo nos estudos de tumores hetero-transplantados, cujo experimento resultou na primeira descrição das células natural killer, as células assassinas naturais (FAGUNDES; TAHA, 2004). Já os modelos negativos são interessantes por retratar as situações na qual, uma doença específica, não se desenvolve e são utilizados para estudos sobre os mecanismos de resistência e o desempenho fisiológico (FAGUNDES; TAHA, 2004). A definição do modelo órfão compreende a ocorrência natural da doença em espécies não humanas, a doença de Marek, Papilomatose e encefalopatia espongiforme bovina (BSE), também chamada de “doença da vaca louca”, exemplifica este modelo (FAGUNDES; TAHA, 2004).

A escolha de um modelo animal para uma determinada pesquisa exige características suficientemente semelhantes para ser aceita e deve atender a critérios pressupostos como: permitir o estudo das manifestações biológicas ou do comportamento animal; permitir que o processo, seja ele espontâneo ou induzido possa ser investigado; que as manifestações sejam semelhantes em seres humanos em um ou mais aspectos (FAGUNDES; TAHA, 2004).

Os animais predominantemente utilizados como modelos na pesquisa são ratos e camundongos, sendo que nas revisões sistemáticas o rato apresenta o maior número de citações (FAGUNDES; TAHA, 2004).

Dentre as recomendações para a experimentação animal, o principal guia é da OECD que em 1981, criou os PBL, com o intuito de controlar a qualidade gerencial que inclui o processo organizacional, bem como as condições na qual os estudos não clínicos de saúde e meio ambiente são planejados, realizados, monitorados, registrados, relatados e retidos/arquivados (OECD, 1997).

Os Princípios de BPL da OECD, são baseados na aplicação de testes para gerar estudos que, posteriormente, são submetidos às autoridades receptoras, as quais farão a avaliação da segurança sanitária e ambiental de produtos químicos. Estes produtos podem vir de origem natural ou biológica e, em algumas circunstâncias, podem ser organismos vivos. Dentre as substâncias que requerem BPL, estão os produtos farmacêuticos, produtos pesticidas, cosméticos, aditivos alimentares, medicamentos veterinários e produtos químicos industriais (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, [s.d.]).

3.2 ESTUDOS NÃO CLÍNICOS DE TOXICOLOGIA E SEGURANÇA FARMACOLÓGICA DA ANVISA

Na última atualização da ANVISA, feita em 31 de janeiro de 2013, encontra-se um guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica, necessários ao desenvolvimento de medicamentos e nele são descritos qual o tipo de estudo, qual é o modelo animal a ser estudado, quais as vias de administração e dosagem e qual o período de observação que deve ser feito. Neste guia, encontramos estudos que avaliam a toxicidade em dose única (aguda), estudos de toxicidade reprodutiva, genotoxicidade, estudos de tolerância local, carcinogenicidade, estudos de Interesse para a Avaliação da Segurança Farmacológica, entre outros (ANVISA, 2013).

- 1) Toxicidade em dose única (aguda): É utilizada com o objetivo de avaliar a toxicidade gerada por uma determinada substância teste, por um período de até 24 horas, pode ser feita a administração de uma ou mais doses e requer a observação por 14 dias após a administração. São exigidas pelo menos duas espécies de mamíferos (ANVISA, 2013).
- 2) Toxicidade reprodutiva: O objetivo é avaliar o efeito das substâncias ativas na reprodução de mamíferos. Os resultados encontrados devem ser cruzados com dados farmacológicos e toxicológicos disponíveis, para rastrear situações de potenciais riscos para a reprodução humana e categorizar se estes riscos são maiores, menores ou semelhantes a outras manifestações toxicológicas. Para tanto, estudos de fertilidade e desenvolvimento embrionário inicial, pré natal e pós natal, incluindo a função materna e o desenvolvimento embrio-fetal devem ser realizados (ANVISA, 2013).

- 3) Estudo de Genotoxicidade: Estes estudos são desenvolvidos in vitro e in vivo e visam prever a capacidade das substâncias em causar alterações cromossômicas e gênicas. Para os ensaios in vitro, as condições exigidas são presença ou ausência de ativação metabólica (ANVISA, 2013).
- 4) Estudos de Tolerância local: O objetivo é testar as substâncias (princípios ativos e excipientes) no local de administração bem como a tolerabilidade. Estes testes, são realizados primordialmente em laboratório para somente depois expor os humanos ao produto. Recomenda-se avaliar a tolerância local de acordo com a via terapêutica programada. A escolha do modelo animal seguirá as recomendações dadas em acordo com o problema avaliado (ANVISA, 2013).
- 5) Estudos de Carcinogenicidade: Buscam reconhecer as substâncias com capacidade de causar tumores em um local, através de um mecanismo. Expõe o animal por um longo período, aplica várias doses da substância teste por uma via de administração apropriada e acompanha o desenvolvimento da lesão (ANVISA, 2013).

3.3 ESTUDOS DE INTERESSE PARA A AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA FARMACOLÓGICA

São os estudos de segurança farmacológica que compara os potenciais efeitos farmacodinâmicos de uma substância teste, nas funções fisiológicas dos diversos sistemas biológicos, relacionando com o nível de exposição. Nestes estudos, são avaliadas as funções vitais dos sistemas respiratório, cardiovascular e o sistema nervoso central, sendo que, se necessário, outros sistemas devem ser avaliados também (ANVISA, 2013).

Os dados de segurança, obtidos nesses estudos, dão suporte às Fases 1, 2 e 3 da Pesquisa Clínica. A fase I da pesquisa, resume-se aos primeiros estudos em seres humanos, onde se faz a aplicação da dose de uma determinada substância e se faz o acompanhamento para avaliar os efeitos e conseqüentemente estabelecer a faixa de dose tolerada e segura. Estes estudos, podem ser conduzidos em pacientes com comorbidades leves ou graves, e quando em pacientes gravemente enfermos, como nos casos de tratamento de câncer, é possível avaliar a dose máxima (QUENTAL; SALLES FILHO, 2006).

Os resultados gerados na fase I, dão base para a fase II, onde não somente a segurança é avaliada, mas também a eficácia. Estes estudos envolvem um grupo grande de pacientes que são divididos em subgrupos. Um subgrupo é utilizado para avaliar aspectos de eficácia e segurança que envolvem a curva de dose-resposta, tipo de paciente, frequência de doses. Já no outro subgrupo a avaliação da eficácia e segurança, tem foco na doença a ser tratada, diagnosticada ou prevenida e comumente, as condições experimentais são mais rigorosas, envolvendo um grupo controle comparativo (QUENTAL; SALLES FILHO, 2006).

Os estudos de eficácia comparativa, que são os estudos de fase III, são aqueles nos quais o medicamento em estudo é administrado a uma população de pacientes que se assemelha daquela com destino final. A terapia-padrão segue as diretrizes estabelecidas pelas sociedades médicas internacionais. Nesta fase de estudo, a população de pacientes pode chegar a vinte mil indivíduos. Após a conclusão dos resultados de estudos pré-clínicos e clínicos, até a Fase III, farão parte de um dossiê que é enviado às agências reguladoras, que aprovam ou não a comercialização do medicamento (QUENTAL; SALLES FILHO, 2006).

A fase IV é aquela pós comercialização e o objetivo é a obtenção de mais informações sobre as interações medicamentosas, seus efeitos e as respostas de segurança realizadas por intermédio dos estudos farmacoepidemiológicos (LIMA *et al.*, 2003; VAN TONGEREN *et al.*, 2011).

Em relação às condições ambientais e de experimentação, estas devem ser preconizadas para cada espécie estudada. Assim como o período do estudo, condições de alimentação e exposição a patógenos, recomenda-se registrá-las no relatório final. Todos os estudos conduzidos requerem descrição da espécie do animal, sexo, idade, número de animais, via de administração e dosagem, período de acompanhamento e avaliação, parâmetros para avaliação de eficácia e toxicidade (DL50%) (RESENDE *et al.*, 2008).

3.4 NÍVEL DE EVIDÊNCIA

“Nível de evidência representa a confiança na informação utilizada em apoio a uma determinada recomendação” (BRASIL, 2014). E há alguns anos esse conceito vem ganhando mais importância e destaque.

Atualmente, têm sido publicados inúmeros ensaios clínicos e estudos pré-clínicos para a pesquisa de novos fármacos, com diferentes alvos terapêuticos. No entanto, o excesso de informação, pode dificultar a tomada de decisão do clínico, que na correria do dia-a-dia não tem tempo de ler vários artigos completos, comparar as informações e necessita de fontes rápidas e confiáveis. Nesse sentido, para a tomada de decisão, os estudos secundários, como as RS e os *guidelines*, têm sido importantíssimos para a síntese da evidência e a avaliação da sua qualidade (CANTO, 2020).

Os estudos de RS têm sido bastante utilizados porque se tornaram resumos, ou síntese de evidência e auxiliam nessa busca ao passo que reúnem, com cuidado, as publicações sobre determinado assunto, e usam critérios e processos rigorosos para a consolidação das informações (SAMPAIO; MANCINI, 2007). Para a elaboração de RS com ou sem meta-análise (análise estatística que agrupa os resultados dos estudos primários) é recomendado o uso do PRISMA (GALVÃO; PANSANI; HARRAD, 2015).

O delineamento da ferramenta PRISMA começou em junho de 2005, quando um grupo de 29 participantes se reuniram em Ottawa, no Canadá, para discutir e melhorar o *checklist* e fluxograma do QUORUM. O QUORUM, foi criado para avaliar relatos de meta-análises de ensaios clínicos randomizados. Antes da reunião, os participantes fizeram uma RS de estudos, com o intuito de avaliar a qualidade dos relatos de uma revisão sistemática, refinaram e exploraram exaustivamente a literatura a fim de localizar artigos metodológicos que viessem a embasar a reunião. Um inquérito internacional, incluindo a INAHTA e a GIN, além de autores e consumidores, foi realizado. O objetivo do inquérito foi verificar as opiniões sobre o QUORUM, incluindo o mérito dos itens já existentes no *checklist* (GALVÃO; PANSANI; HARRAD, 2015).

Atualmente, a declaração PRISMA é constituída por uma lista de verificação de 27 itens (Tabela 1) e um diagrama de fluxo de quatro fases (Figura 1) (utilizado para a busca sistemática e rigorosa do tema investigado na literatura). O enfoque principal desta declaração são os ensaios randomizados. É útil nas revisões sistemáticas e em outros tipos de pesquisa, especialmente nas avaliações de intervenções, além de que pode contribuir como uma avaliação crítica de revisões sistemáticas. Contudo, não é um bom instrumento para medir a qualidade de uma revisão sistemática, para isso utilizasse o AMSTAR (uma ferramenta de medição para avaliar a qualidade

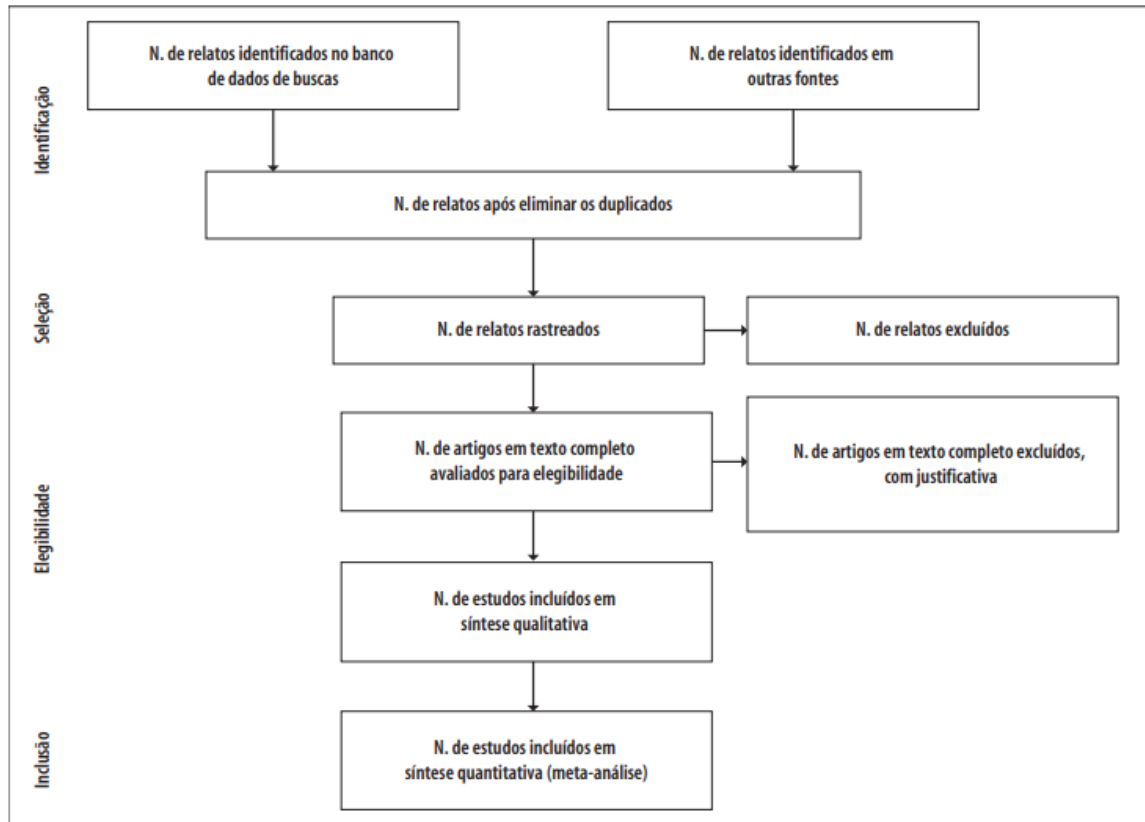
metodológica das revisões sistemáticas) também elaborado pelo grupo PRISMA (GALVÃO; PANSANI; HARRAD, 2015).

Tabela 1 - Itens do *checklist* a serem incluídos no relato de revisão sistemática ou meta-análise

Seção/tópico	N. Item do checklist	Relatado na página nº
TÍTULO		
Título	1	Identifique o artigo como uma revisão sistemática, meta-análise, ou ambos.
RESUMO		
Resumo estruturado	2	Apresente um resumo estruturado incluindo, se aplicável: referencial teórico; objetivos; fonte de dados; critérios de elegibilidade; participantes e intervenções; avaliação do estudo e síntese dos métodos; resultados; limitações; conclusões e implicações dos achados principais; número de registro da revisão sistemática.
INTRODUÇÃO		
Racional	3	Descreva a justificativa da revisão no contexto do que já é conhecido.
Objetivos	4	Apresente uma afirmação explícita sobre as questões abordadas com referência a participantes, intervenções, comparações, resultados e delineamento dos estudos (PICOS).
MÉTODOS		
Protocolo e registro	5	Indique se existe um protocolo de revisão, se e onde pode ser acessado (ex. endereço eletrônico), e, se disponível, forneça informações sobre o registro da revisão, incluindo o número de registro.
Crítérios de elegibilidade	6	Especifique características do estudo (ex.: PICOS, extensão do seguimento) e características dos relatos (ex. anos considerados, idioma, a situação da publicação) usadas como critérios de elegibilidade, apresentando justificativa.
Fontes de informação	7	Descreva todas as fontes de informação na busca (ex.: base de dados com datas de cobertura, contato com autores para identificação de estudos adicionais) e data da última busca.
Busca	8	Apresente a estratégia completa de busca eletrônica para pelo menos uma base de dados, incluindo os limites utilizados, de forma que possa ser repetida.
Seleção dos estudos	9	Apresente o processo de seleção dos estudos (isto é, rastreados, elegíveis, incluídos na revisão sistemática, e, se aplicável, incluídos na meta-análise).
Processo de coleta de dados	10	Descreva o método de extração de dados dos artigos (ex.: formulários piloto, de forma independente, em duplicata) e todos os processos para obtenção e confirmação de dados dos pesquisadores.
Lista dos dados	11	Liste e defina todas as variáveis obtidas dos dados (ex.: PICOS, fontes de financiamento) e quaisquer suposições ou simplificações realizadas.
Risco de viés em cada estudo	12	Descreva os métodos usados para avaliar o risco de viés em cada estudo (incluindo a especificação se foi feito no nível dos estudos ou dos resultados), e como esta informação foi usada na análise de dados.
Medidas de sumarização	13	Defina as principais medidas de sumarização dos resultados (ex.: risco relativo, diferença média).
Síntese dos resultados	14	Descreva os métodos de análise dos dados e combinação de resultados dos estudos, se realizados, incluindo medidas de consistência (por exemplo, I ²) para cada meta-análise.
Risco de viés entre estudos	15	Especifique qualquer avaliação do risco de viés que possa influenciar a evidência cumulativa (ex.: viés de publicação, relato seletivo nos estudos).
Análises adicionais	16	Descreva métodos de análise adicional (ex.: análise de sensibilidade ou análise de subgrupos, metarregressão), se realizados, indicando quais foram pré-especificados.
RESULTADOS		
Seleção de estudos	17	Apresente números dos estudos rastreados, avaliados para elegibilidade e incluídos na revisão, razões para exclusão em cada estágio, preferencialmente por meio de gráfico de fluxo.
Características dos estudos	18	Para cada estudo, apresente características para extração dos dados (ex.: tamanho do estudo, PICOS, período de acompanhamento) e apresente as citações.
Risco de viés em cada estudo	19	Apresente dados sobre o risco de viés em cada estudo e, se disponível, alguma avaliação em resultados (ver item 12).
Resultados de estudos individuais	20	Para todos os desfechos considerados (benefícios ou riscos), apresente para cada estudo: (a) sumário simples de dados para cada grupo de intervenção e (b) efeitos estimados e intervalos de confiança, preferencialmente por meio de gráficos de floresta.
Síntese dos resultados	21	Apresente resultados para cada meta-análise feita, incluindo intervalos de confiança e medidas de consistência.
Risco de viés entre estudos	22	Apresente resultados da avaliação de risco de viés entre os estudos (ver item 15).
Análises adicionais	23	Apresente resultados de análises adicionais, se realizadas (ex.: análise de sensibilidade ou subgrupos, metarregressão [ver item 16]).
DISCUSSÃO		
Sumário da evidência	24	Sumarize os resultados principais, incluindo a força de evidência para cada resultado; considere sua relevância para grupos-chave (ex.: profissionais da saúde, usuários e formuladores de políticas).
Limitações	25	Discuta limitações no nível dos estudos e dos desfechos (ex.: risco de viés) e no nível da revisão (ex.: obtenção incompleta de pesquisas identificadas, viés de relato).
Conclusões	26	Apresente a interpretação geral dos resultados no contexto de outras evidências e implicações para futuras pesquisas.
FINANCIAMENTO		
Financiamento	27	Descreva fontes de financiamento para a revisão sistemática e outros suportes (ex.: suprimento de dados); papel dos financiadores na revisão sistemática.

Fonte: adaptado de GALVÃO; PANSANI; HARRAD, 2015.

Figura 1 - Fluxograma de quatro etapas

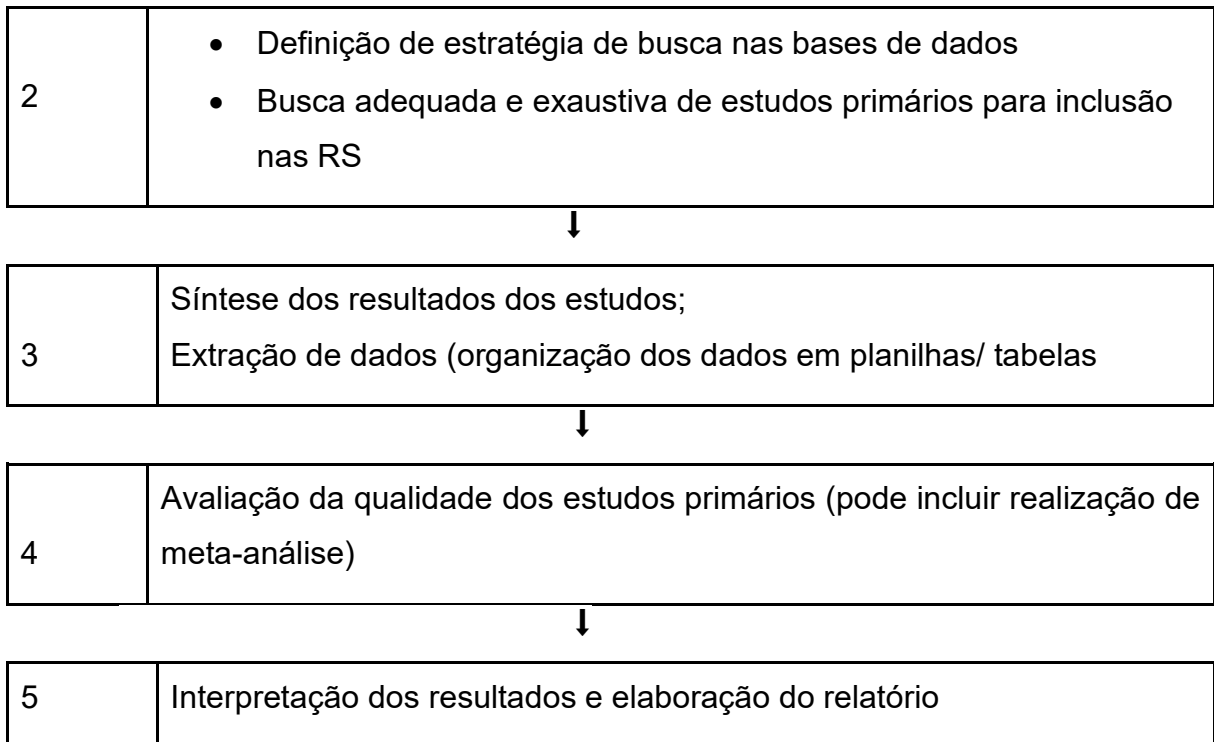


Fonte: adaptada de GALVÃO; PANSANI; HARRAD, 2015.

O primeiro passo na construção de um RS é a formulação de uma boa pergunta científica que tentará responder um tema específico. A utilização de critérios rigorosos na elaboração da RS permitirá uma melhor análise quantitativa e qualitativa dos resultados dos estudos primários acerca das evidências relevantes, que podem ser seguidas de uma meta-análise ou não (SILVA, 2019).

Quadro 1 - Etapas de uma revisão sistemática

1	Formulação de uma pergunta de revisão bem delineada. Em geral, utiliza-se o acrônimo PICO, em que P=população, I= intervenção; C= controle; O=Outcome ou desfecho.
↓	
	<ul style="list-style-type: none"> Definição de critérios de inclusão/exclusão



Fonte: adaptado de TOMA et al., 2017.

Nas buscas por estudos, as revisões sistemáticas esgotam ao máximo todas as publicações sobre a pergunta definida. Para isso, as principais bases de dados são: *Web of Science*, *Scopus*, *Spell*, e *Google scholar*, além de manuais publicados em revistas que não estão disponíveis nas bases de dados e também trabalhos publicados em anais de congressos (SILVA, 2019).

Uma vez que os estudos são resgatados, uma avaliação crítica de inclusão e exclusão são aplicados, justificando o motivo da inserção ou retirada com base nos critérios de validade, anteriormente definidos. As características do método, amostra e resultado devem ser apresentadas para permitir comparação ou não entre os estudos selecionados. Faz-se a determinação da força da evidência encontrada e se compara os benefícios e riscos de forma clara e após a publicação, busca fazer aprimoramento e atualização das informações na medida em que novos estudos vão surgindo (SILVA, 2019).

Os *guidelines*, definidos como um conjunto de diretrizes direcionadas à parte clínica, que tem por objetivo orientar o médico ou profissionais da área, também são fontes muito utilizadas para busca de informações seguras e rápidas e são cada vez mais publicadas pelos órgãos de saúde (IPTC, [s.d.]

Para produzir informações de qualidade, não basta apenas estudos bem delineados, também são necessárias ferramentas de avaliação destes estudos. Para seres humanos, existe a pirâmide de avaliação do nível de evidência (Figura 2) amplamente conhecida, a qual classifica os estudos em maior ou menor nível de evidência, servindo como um bom guia no momento de se fazer um estudo. Para avaliar a qualidade de evidência dos estudos em humanos, a ferramenta de graduação da qualidade é o GRADE, comumente o mais utilizado e que também tem sido recomendado para estudos pré-clínicos (GRADE, 2022).

Figura 2 - Pirâmide da Evidência Revisada



Fonte: adaptado do site U.S GRADE Network blog²

A avaliação do nível de evidência é fundamental para a recomendação de uma intervenção, diagnóstico ou exposição. Neste processo, é analisado o risco de viés dos estudos incluídos, as inconsistências, evidências indiretas, imprecisão dos resultados e viés de publicação. E é recomendado que a avaliação do nível de evidência seja aplicada às RS, aos *guidelines*, as pesquisas qualitativas, pesquisa de acurácia e diagnóstico, saúde ocupacional, ambiental e equidade (CANTO, 2020).

Para a avaliação do nível da evidência dos estudos em animais, a ferramenta utilizada também é o GRADE (GRADE, 2022). Sobre o GRADE, ele foi criado em meados dos anos 2000, por um grupo de pesquisadores que tinham por objetivo facilitar a tomada de decisão, através de uma ferramenta universal, transparente e sensível e que além da classificação da evidência pudesse trazer a força da

² Disponível em: <<https://usblog.gradeworkinggroup.org/2016/06/proposed-new-evidence-based-medicine.html>>. Acesso em: 10 jul. 2022.

recomendação, fundamental nos assuntos de saúde (GRADE, 2022). “Atualmente, mais de 80 instituições internacionais, utilizam o GRADE, entre elas a OMS, o National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), a SIGN, of Centers for Disease Control and Prevention (CDC) e a colaboração Cochrane” (BRASIL, 2014).

Estudos como, ensaio clínico e pré-clínicos randomizados, já iniciam com alto nível de evidência e nestes casos quando se faz a graduação da qualidade, é possível rebaixar o nível destes estudos. Quando o ponto de partida são os estudos observacionais, o nível começa baixo, porém pode ser aumentado de acordo com os critérios estabelecidos na avaliação da evidência. Percebe-se que, o primeiro passo para avaliar a qualidade da evidência se dá pela escolha do estudo, a partir disso os critérios são definidos para fazer uma avaliação mais detalhada (GALVÃO; PEREIRA, 2015).

Fatores que diminuem a qualidade de estudos clínicos randomizados são as limitações metodológicas (risco de viés), as inconsistências, evidências indiretas, imprecisão dos resultados e vieses de publicação e se estes fatores não rebaixarem a qualidade dos estudos em questão, outros pontos são avaliados, são estes, a magnitude de efeito, gradiente dose-resposta e os fatores de confusão residuais, os quais aumentam a confiança na estimativa (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

3.4.1 Fatores que diminuem a qualidade da evidência

- 1) Limitações metodológicas (risco de viés): As limitações metodológicas, referem-se ao risco de viés que os estudos podem apresentar, o que gera uma diminuição na confiança sobre os resultados produzidos. Quando as limitações são relevantes, elas são classificadas em graves ou muito graves e de acordo com o quanto aumentam as incertezas sobre a estimativa apresentada, é rebaixado em um ou dois níveis. O GRADE avalia o risco de viés para um conjunto de evidências e não para estudos individuais, no entanto, a avaliação da qualidade de estudos individuais contribui muito no processo. Exemplos de ferramentas que fazem avaliação de estudos individuais são as desenvolvidas pela colaboração Cochrane que é utilizada para estudos de intervenção e a escala de Newcastle-Otawa aplicada a estudos observacionais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

- 2) Inconsistência: As inconsistências são aquelas que geram variabilidade nos resultados de diferentes estudos. É comum muitos estudos apresentarem diferenças clínicas e metodológicas ao tentarem responder a mesma pergunta de pesquisa. Um exemplo disso é o uso de populações diferentes no estudo. Isso resultará em diferenças nos resultados individuais, ou seja, inconsistência nos resultados.

Para facilitar este processo, alguns critérios auxiliam no julgamento do que se tratam as inconsistências presentes nos estudos. Estes são:

- Altas divergências nas estimativas dos efeitos, por exemplo o risco relativo dos estudos individuais;
- Intervalos de confiança sobrepostos;
- Teste de heterogeneidade, inconsistência e teste de inconsistência (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

- 3) Evidência indireta: Para entender mais claramente, podemos dizer que uma evidência indireta é a oposta de uma evidência direta, ou seja, não responde de forma objetiva à pergunta de pesquisa. Pode ser aplicada às quatro perguntas principais da estratégia PICO, que é a população, intervenção, comparação e desfecho. Relacionada à população, traduz-se uma evidência indireta quando os participantes em avaliação, envolvidos nos estudos não representam a população de interesse. Por exemplo, não é esperado que o tratamento da depressão maior, com antidepressivos, seja consideravelmente diferente em populações de países desenvolvidos e nos países em desenvolvimento. Nesta situação, não se faz necessário reduzir o nível de evidência. Contudo, se os estudos sobre a efetividade dos antidepressivos forem desenvolvidos em uma população adulta e se deseja aplicar os resultados na população infantil, o nível da evidência deve ser reduzido, pois isso representa uma evidência indireta da população (Whats is Grade?, 2022).
- Intervenção: No quesito intervenção para um determinado fármaco em avaliação, as doses aplicadas são diferentes ou então, as técnicas psicoterápicas não são as mesmas (Whats is Grade?, 2022).
- Comparação: não se explica com base na estratégia PICO. Nota-se isso, quando não existem comparações diretas entre as alternativas, tanto no caso de estudos de múltipla

comparação, como nos estudos de simulação. Nestas situações, as estimativas de efeito geradas se baseiam nas comparações indiretas, o que pode levar a um risco maior de vieses (Whats is Grade?, 2022). Desfecho: os desfechos avaliados são diferentes do desfecho inicialmente escolhido, e pode ser exemplificado com o uso de desfechos substitutos (Whats is Grade?, 2022).

- 4) Imprecisão dos resultados: A principal forma para avaliar e classificar a imprecisão dos resultados através do GRADE é aplicando a análise dos intervalos de confiança de 95% (IC), pois este consegue estimar o impacto do erro aleatório na qualidade da evidência, observando os limites superior e inferior do intervalo. Permite verificar o quão próximos estão os IC da estimativa e dependendo do quão amplos são, a qualidade pode ser rebaixada em um ou dois níveis. É importante também analisar o número de pacientes e eventos, pois amostras pequenas e baixa taxa de eventos são rebaixados por imprecisão (TOMA et al., 2017).

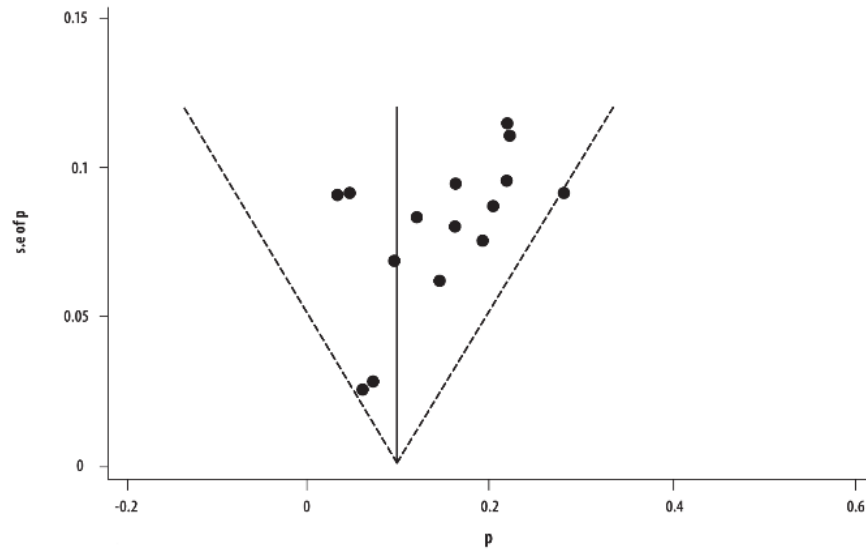
Nas revisões sistemáticas, frequentemente encontramos evidência indireta para a maioria das questões de pesquisa, isso ocorre porque não é possível, encontrar estudos específicos para todas as alternativas relacionadas a população de interesse. No entanto, não obrigatoriamente, o nível de evidência será rebaixado, deve-se nestes casos, avaliar de forma qualitativa o quanto reduzirá a confiança nas estimativas de efeito (BRASIL, 2014).

- 5) Vieses de publicação: “Entende-se por viés de publicação a tendência de os resultados publicados estarem sistematicamente diferentes da realidade” (PEREIRA; GALVÃO, 2014). As indústrias farmacêuticas são vistas como fomentadoras de viés de publicação, uma vez que financiam muitas pesquisas (TOMA et al., 2017). Deve-se levar em conta o número amostral e se este for pequeno e proveniente de poucos estudos, rebaixa-se o nível de evidência.

A avaliação do gráfico de funil do desfecho (Figura 3), juntamente com análise dos resultados dos testes estatísticos de viés de publicação, são importantes para predizer se tem viés e se a qualidade da evidência deve ser rebaixada em um nível. Para a construção deste gráfico é recomendado a

análise de pelo menos 10 estudos, baseando-se na precisão e estimativa (PEREIRA; GALVÃO, 2014).

Figura 3 - Gráfico de estimativa de precisão



Fonte: adaptado de PEREIRA; GALVÃO, 2014.

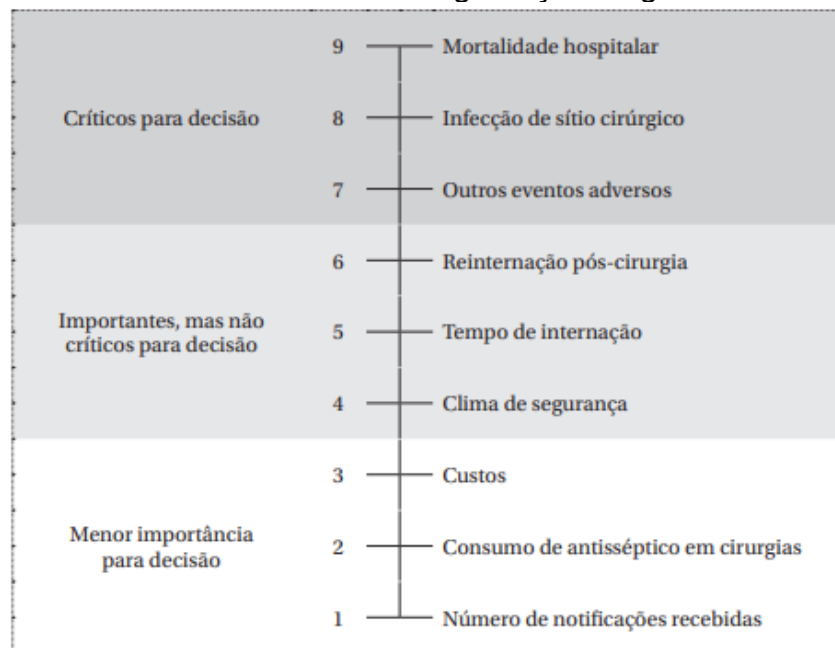
Na Figura 3 está representada um exemplo da prevalência de depressão (eixo x) pelo erro padrão de cada estudo (eixo y). Na parte superior do funil, encontramos estudos mais prevalentes, porém menos precisos. Entretanto, na parte inferior ou mais estreita do funil é possível notar estudos com maior precisão, porém menos prevalentes, estudos estes que possivelmente nem tenham sido publicados, o que sugere um viés de publicação (PEREIRA; GALVÃO, 2014).

3.4.2 Fatores que aumentam a qualidade da evidência

- 1) Grande magnitude de efeito: Segundo o GRADE, há uma grande magnitude de efeito quando o risco relativo (RR) é maior que 2,0 ou menor que 0,5 ($RR \geq 2$ ou $\leq 0,5$), usando como base pelo menos dois estudos com evidência reconhecida e sem confundidores plausíveis. Neste caso, a evidência é elevada em um nível. Quando o RR é maior que 5,0 ou menor que 0,2 ($RR \geq 5$ ou $\leq 0,2$), diz-se que há um efeito muito grande e a qualidade da evidência é elevada em dois níveis (TOMA *et al.*, 2017).

2) Gradiente dose-resposta: Observa-se o gradiente dose-resposta quando um fator prognóstico é aumentado, seja com maior duração, maior dosagem, maior intensidade, o que acarretará num aumento do tamanho do efeito quando comparados a níveis mais baixos desse fator e conseqüentemente, a presença desta relação, aumentará a confiança dos resultados. Exemplo: Uso de antibioticoprofilaxia, 1 hora antes do procedimento cirúrgico para fim de prevenção de infecção no local da incisão, demonstrado na Figura 4. Um estudo de coorte envolvendo 32.459 pacientes mostrou que 9,2% (13/141 pacientes) apresentaram infecção no sítio cirúrgico quando a administração ocorreu 2 horas antes da incisão. 5,7% (98/1.721) se administrado entre 1 e 2 horas antes, 4,5% (1.343/29.830) se realizado dentro 1 hora. Percebe-se a presença de um gradiente de resposta na medida em que se reduz o tempo. Quando o antibiótico foi administrado após a incisão, a incidência de infecção era de 5,1% após 1 hora de incisão (31/671). Entre 1 e 2 horas, 12,5% (7/56) e acima de duas horas 4,9% (2/41). Para estudos observacionais, a presença de gradiente dose-resposta aumenta a qualidade de evidência em um nível (TOMA *et al.*, 2017).

Figura 4 - Importância dos desfechos para avaliar os efeitos de intervenções multifacetadas na segurança cirúrgica



Fonte: adaptado de TOMA *et al.*, 2017.

Na Figura 4, podemos avaliar os desfechos de um protocolo clínico (criado apenas para exemplificar), referente a implantação de intervenções multifacetadas para aumentar a segurança cirúrgica em um hospital (TOMA *et al.*, 2017).

- 3) Influência positiva dos fatores de confusão: “Ocorre quando estudos observacionais falham em demonstrar uma associação, mas todos os vieses plausíveis teriam aumentado ou diminuído um efeito da intervenção” (TOMA *et al.*, 2017). Para entender melhor, um exemplo citado no GRADE é sobre a uma meta-análise, onde hospitais privados com fins lucrativos tiveram uma maior proporção de mortes quando comparados a hospitais privados sem fins lucrativos. O que se esperaria era uma estimativa de associação sobressaindo nos hospitais privados com fins lucrativos, em decorrência dos vieses encontrados, das diferenças na gravidade das doenças e do efeito dos pacientes com seguro (TOMA *et al.*, 2017).

Importante observar que hospitais sem fins lucrativos tendem a receber pacientes mais graves, o que pode refletir numa taxa maior de mortalidade, isso contudo, é uma fonte potencial de viés. No entanto, o que se observou foi justamente o contrário, e o confundimento residual provavelmente esteja interferindo na redução tamanho de efeito, e consequentemente levando a acreditar que a mortalidade é menor (TOMA *et al.*, 2017).

Uma vez que os fatores que comprometem a qualidade da evidência são avaliados e concluídos, o GRADE determina um nível para estes estudos que são definidos como alto, moderado, baixo ou muito baixo e essa decisão dependerá de alguns critérios que são avaliados de acordo com cada desfecho.

Quadro 2 - Graduação dos níveis de evidência pelo GRADE

Nível de evidência	Definição	Implicações
Alto	Há forte confiança de que o verdadeiro efeito esteja próximo daquele estimado.	É improvável que trabalhos adicionais irão mudar a confiança na estimativa de efeito.
Moderado	Há confiança moderada no efeito estimado.	Trabalhos futuros poderão modificar a confiança na estimativa de efeito, podendo, inclusive, modificar a estimativa.
Baixo	A confiança no efeito é limitada.	Trabalhos futuros provavelmente terão um impacto importante em nossa confiança de estimativa de efeito.
Muito Baixo	A confiança na estimativa de efeito é muito limitada. há importante grau de incerteza nos achados.	Qualquer estimativa de efeito é incerta.

Fonte: adaptado do site HTAnalyze - Economia e Gestão de Saúde³

3.5 FORÇA DE RECOMENDAÇÃO

A força da recomendação é diferente do nível de evidência, embora às vezes sejam confundidas. Ela determina se uma conduta deve ser aceita ou rejeitada com base nas vantagens e desvantagens. Se os benefícios resultam na melhoria da qualidade de vida, no aumento da sobrevida e diminuição de custos, a recomendação é aceitar a conduta, porém se os efeitos adversos são muitos, se existir uma sobrecarga psicológica tanto para o paciente como para os familiares ou os custos para a sociedade são elevados, a recomendação é de rejeitar a conduta (BRASIL, 2014).

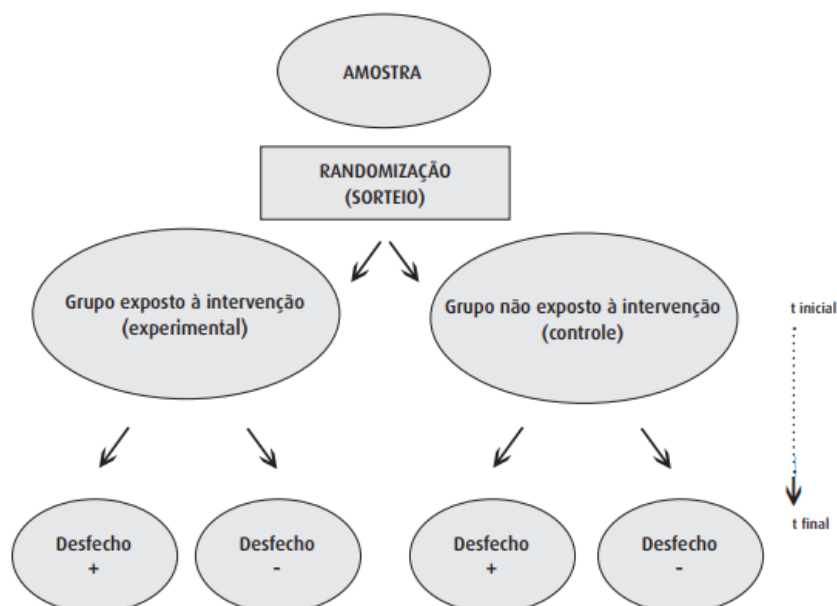
3.6 FERRAMENTA DE AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DA COCHRANE (ROB TOOL)

³ Disponível em: <https://www.htanalyze.com/metanalise/grade/>. Acesso em: 10 jul. 2022.

Além das ferramentas de avaliação do nível de evidência, existem também as ferramentas de avaliação do risco de Viés, e isso se aplica para estudos individuais, diferente do GRADE que atendia a um conjunto de estudos. A primeira ferramenta de Avaliação do Risco de Viés a ser descrita é a da Cochrane e ela envolve sete domínios: método de randomização, sigilo de alocação, Cegamento dos participantes e terapeutas, Cegamento do avaliador, Dados incompletos dos desfechos, Relato seletivo de desfecho e outras fontes de viés (COCHRANE, 2022).

- 1) Método de randomização: A técnica de randomização é um tipo de estudo experimental, que foi desenvolvida para seres humanos e tem como propósito avaliar o efeito de uma intervenção, seja ela, profilática ou terapêutica, com controles como mostrada na Figura 5. É considerada fundamental e padrão ouro para a obtenção de evidências em saúde. Neste método, o pesquisador aplica o fator de intervenção de forma aleatória, de maneira que a formação dos grupos controle ou experimental sejam formados sem uma ordem e sem tendência. Quando se descreve em detalhes a forma como foi feita randomização, é possível fazer um julgamento se de fato os grupos são comparáveis. Apesar da técnica ter sido desenvolvida inicialmente para seres humanos, tem a mesma importância para estudos em animais (SCHULZ; GRIMES, 2002).

Figura 5 - Diagrama do ECCR

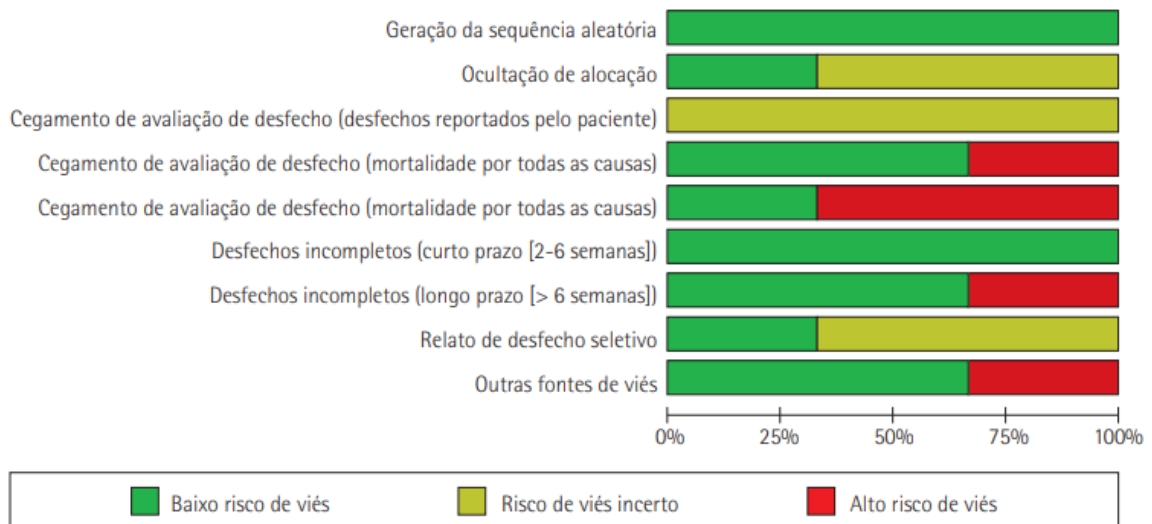


Fonte: adaptado de TOMA et al., 2017.

- 2) Sigilo de alocação: Método aplicado que garante que os investigadores e os participantes não sejam capazes de prever em qual grupo serão alocados. É importante relatar em detalhes a forma como foi conduzida, pois garante analisar se a aleatorização foi feita de forma adequada. A alocação dos animais nos grupos deve ser aleatória e detalhado o suficiente (PANDIS, 2012).
- 3) Cegamento dos participantes e terapeutas: Visa impedir que os participantes ou profissionais envolvidos na pesquisa saibam qual o tipo de intervenção dada ao participante. Para estudos em animais, é recomendado que o pesquisador que fará a intervenção esteja cego quanto à intervenção administrada no grupo teste e comparador (PANDIS, 2012).
- 4) Cegamento do avaliador: O avaliador do desfecho não deve ter conhecimento da intervenção aplicada aos participantes. Isso também se aplica aos estudos em animais, no qual o ideal é que o avaliador não seja o mesmo que aplicou a intervenção (DE CARVALHO; SILVA; GRANDE, 2013).
- 5) Dados incompletos dos desfechos: Os dados relacionados ao desfecho devem ser descritos de forma completa e detalhada, relatando as perdas, às exclusões da análise bem como os motivos pelas quais foram retiradas (DE CARVALHO; SILVA; GRANDE, 2013).
- 6) Relato seletivo de desfecho: Quando os ensaios randomizados selecionam os desfechos no momento de descrever os resultados dos estudos, favorecendo apenas os resultados de interesse do pesquisador ou omitindo dados relevantes (DE CARVALHO; SILVA; GRANDE, 2013).
- 7) Outras fontes de viés: Caso um outro viés surja que não se encaixa em um domínio anteriormente previsto, este deve ser relatado, exemplo: conflito de interesse.

A Figura 6 demonstra uma maneira de representar o risco de viés através da ferramenta ROB Tool (DE CARVALHO; SILVA; GRANDE, 2013).

Figura 6 - Exemplo de gráfico de risco de viés de uma revisão sistemática.



Fonte: adaptado de DE CARVALHO; SILVA; GRANDE, 2013.

3.7 SYRCLE

Outra ferramenta disponível para avaliar o risco de viés é a RoB da SYRCLE. Foi Baseada na Cochrane Collaboration RoB Tool, o SYStematic Review Center for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE) com o propósito de ser aplicada a estudos de intervenção animal. O objetivo principal é avaliação da qualidade metodológica, mas foi adaptada para avaliar aspectos relacionados ao risco de viés importante em experimentos com animais (HOOIJMANS et al., 2014).

A ferramenta ROB para estudos em animais avalia 6 tipos de viés: viés de seleção, viés de desempenho, viés de detecção, viés de atrito, viés de relatório e outros vieses e a base para construção desta ferramenta, foi a Cochrane RoB Tool (HOOIJMANS et al., 2014).

Quadro 3 - Ferramenta do SYRCLE para avaliar o risco de viés

Item	Tipo de viés	Domínio	Descrição do domínio	Revisar o julgamento dos autores
1	Viés de seleção	Geração de sequência	Descreva os métodos usados, se houver, para gerar a sequência de alocação com detalhes suficientes para permitir uma avaliação se deve produzir grupos comparáveis.	A sequência de alocação foi gerada e aplicada adequadamente?
2	viés de seleção	Características base	Descreva todos os possíveis fatores prognósticos ou características dos animais, se houver, que são comparados para julgar se os grupos intervenção e controle eram semelhantes no início do experimento.	Os grupos foram semelhantes na linha de base ou foram ajustados para fatores de confusão na análise?
3	viés de seleção	Ocultação de alocação	Descreva o método usado para ocultar a sequência de alocação com detalhes suficientes para determinar se as alocações de intervenção poderiam ter sido previstas antes ou durante a inscrição.	A alocação foi adequadamente ocultada?
4	Viés de desempenho	Alojamento aleatório	Descreva todas as medidas utilizadas, se houver, para alojar os animais aleatoriamente dentro da sala de animais.	Os animais foram alojados aleatoriamente durante o experimento?

5	Viés de desempenho	Cegueira	Descreva todas as medidas usadas, se houver, para que os cuidadores e pesquisadores do estudo cego saibam qual intervenção cada animal recebeu. Forneça qualquer informação relativa à eficácia do cegamento pretendido.	Os cuidadores e/ou investigadores estavam cegos quanto ao conhecimento de qual intervenção cada animal recebeu durante o experimento?
6	Viés de detecção	Avaliação de resultado aleatório	Descreva se os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação de resultados e quais métodos para selecionar os animais, se houver, foram usados.	Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação dos resultados?
7	Viés de detecção	Cegueira	Descreva todas as medidas usadas, se houver, para cegar os avaliadores de resultados de saber qual intervenção cada animal recebeu. Forneça qualquer informação relativa à eficácia do cegamento pretendido.	O avaliador de resultados estava cego?
8	Viés de atrito	Dados de resultado incompletos	Descreva a integridade dos dados de resultados para cada resultado principal, incluindo atritos e exclusões da análise. Indique se foram relatados atritos e exclusões, os números em cada grupo de intervenção (em	Os dados de resultados incompletos foram tratados adequadamente?

			comparação com o total de animais randomizados), razões para atritos ou exclusões e quaisquer reinclusões nas análises para a revisão.	
9	Viés de reportagem	Relatório de resultado seletivo	Indique como o relato seletivo de resultados foi examinado e o que foi encontrado.	Os relatórios do estudo estão livres de relatórios seletivos de resultados?
10	Outro	Outras fontes de viés	Declare quaisquer preocupações importante sobre viés não cobertas por outros domínios da ferramenta	O estudo estava aparentemente livre de outros problemas que poderiam resultar em alto risco de viés?

Fonte: adaptado de HOOIJMANS et al., 2014.

3.8 OHAT

A ferramenta OHAT foi desenvolvida com base em diversas outras ferramentas, como a ferramenta da Cochrane ROB, Manual Cochrane, SYRCLE, Agency for Healthcare Research e Qualidade entre outras fontes disponíveis recentes (NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM *et al.*, 2015). Consiste em instruções detalhadas de classificação do risco de viés de estudos individuais. É construída utilizando um conjunto de 10 domínios e uma categoria adicional para considerar “outras ameaças potenciais à validade interna”. Classifica o risco de viés em quatro categorias (Quadro 4) e as perguntas podem ser aplicadas de 1 a 6 tipos de estudos que são os estudos experimentais, ensaios controlados para humanos, coorte, caso controle, transversal e séries/relatos de casos (NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM *et al.*, 2015).

Quadro 4 - Classificação do risco de viés da ferramenta OHAT

Definitivamente Baixo risco de viés:	Há evidências diretas de práticas de baixo risco de viés (Pode incluir exemplos específicos de práticas relevantes de baixo risco de viés).
Provavelmente Baixo risco de viés:	Há evidência indireta de práticas de baixo risco de viés OU considera-se que os desvios de práticas de baixo risco de viés para esses critérios durante o estudo não resultados de viés, incluindo a consideração da direção e magnitude do viés.
Provavelmente Alto risco de viés:	Há evidências indiretas de práticas de alto risco de viés OU são insuficientes informações (por exemplo, não relatadas ou "NR") fornecidas sobre práticas relevantes de risco de viés.
Definitivamente Alto risco de viés:	Há evidências diretas de práticas de alto risco de viés (Pode incluir exemplos específicos de práticas relevantes de alto risco de viés)

Fonte: adaptado de OATAH, 2015.

O guia norteador para avaliação do risco de viés é a aplicação das 11 perguntas ou domínios:

1. A dose administrada ou o nível de exposição foi randomizado adequadamente?
2. A alocação para grupos de estudo foi adequadamente ocultada?
3. A seleção dos participantes do estudo resultou em grupos de comparação apropriados?
4. O desenho ou análise do estudo foi responsável por fatores de confusão e modificando variáveis?
5. As condições experimentais foram idênticas entre os grupos de estudo?
6. O pessoal da pesquisa e os sujeitos humanos estavam cegos para o grupo de estudo durante o estudo?
7. Os dados dos resultados foram completos sem atrito ou exclusão da análise?
8. Podemos confiar na caracterização da exposição?
9. Podemos confiar na avaliação dos resultados?
10. Todos os resultados medidos foram relatados?

11. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (por exemplo, estatísticas métodos foram adequados e os pesquisadores aderiram ao protocolo do estudo)? (NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM *et al.*, 2015).

3.9 FERRAMENTAS DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA

Importante esclarecer que além de tipos de estudos e ferramentas de avaliação da qualidade e risco de viés, também existem ferramentas para avaliação da qualidade metodológica. “A qualidade metodológica, pode incluir características de condução do estudo com alto padrão metodológico, por exemplo, fazer o cálculo amostral, seguir preceitos éticos ou usar guia de redação para escrever o artigo” (CANTO; STEFANI; MASSIGNAN, 2021). Alguns exemplos são: Escala Jadad, Escala PEDro, NOS, JBI, AMSTAR 2, conforme o Quadro 5 abaixo.

Quadro 5 - Ferramentas para avaliação da qualidade metodológica ou risco de viés, conforme o tipo de revisão sistemática e desenho dos estudos incluídos

Tipos de Revisão Sistemática e desenhos de estudo incluídos	Ferramentas para risco de viés	Ferramentas para qualidade metodológica
Revisão Sistemática de Intervenção Estudos incluídos: Ensaio Clínico Randomizados (ECR) Estudos incluídos: Estudos de Intervenção Não Randomizados	RoB 2.0 ROBINS-I	Escala Jadad Escala PEDro
Revisão Sistemática de Acurácia de Testes Diagnósticos Estudos incluídos: de diagnóstico (aditem diferentes desenhos de estudo)	QUADAS-2	
Revisão Sistemática de Prognóstico	QUIPS	

Estudos incluídos: de prognóstico (admitem diferentes desenhos de estudo)		
<p>Revisão Sistemática de Estudos Observacionais (associação, fator de risco e prevalência)</p> <p>Estudos incluídos: coorte, caso-controle</p> <p>Estudos incluídos: coorte, caso-controle, transversal</p> <p>Estudos incluídos: prevalência</p>		<p>NOS</p> <p>JBI</p> <p>JBI</p>
<p>Revisão de Revisões (<i>Overview</i> ou <i>Umbrella Review</i>)</p> <p>Estudos incluídos: revisões sistemáticas</p>	ROBIS	AMSTAR 2
<i>In vivo</i> (não humanos)	<p>SYRCLE</p> <p>OHAT</p>	<p>CAMARADES</p> <p>SCIRAP</p>

Fonte: adaptado de CANTO; STEFANI; MASSIGNAN, 2021.

É possível encontrar muitas ferramentas de avaliação da qualidade metodológica, assim como ferramentas de avaliação do risco de viés, e a escolha de qual utilizar segue a que atende melhor o desenho de estudo incluído na revisão sistemática. No entanto, sempre que possível a orientação é utilizar as de avaliação do risco de viés, que é baseada nos componentes de avaliação da validade interna (CANTO; STEFANI; MASSIGNAN, 2021).

4 CONCLUSÃO

A ferramenta mais utilizada para avaliação do nível da evidência de estudos pré-clínicos em modelos animais é o GRADE. Recentemente, essa ferramenta tem sido cada vez mais utilizada nas revisões sistemáticas e *guidelines* a fim de recomendar ou não o uso de novas substâncias e compreender os mecanismos de patogenicidade. A aplicação desta ferramenta para verificar a evidência de estudos pré-clínicos norteia as pesquisas futuras em animais e em seres humanos, indicando ou não a necessidade de mais estudos experimentais, contribuindo também para a redução do uso de animais em experimentação e refinamento das pesquisas.

5 REFERÊNCIAS

AGUILAR-NASCIMENTO, JE. **Fundamental steps in experimental design for animal studies**. Acta Cirúrgica Brasileira, v. 20, p. 2-3, 2005.

ANVISA, Brasília, 2013. **Guia para condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos**. Versão 2. Anvisa, Brasília.

BRASIL. **decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009**. Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria-Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais - CIUCA, mediante a regulamentação da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais, e dá outras providências. Brasília, DF: Presidência da República, 2009. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d6899.htm. Acesso em: 25 fev. 2022.

BRASIL. **lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008**. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Brasília, DF: Presidência da República, 2008. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm. Acesso em: 25 fev. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Síntese de Evidências para Políticas de Saúde: estimulando o uso de evidências científicas na tomada de decisão**. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia, 1. ed., Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Diretrizes metodológicas: Sistema GRADE – Manual de graduação da qualidade da evidência e força de**

recomendação para tomada de decisão em saúde. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia., Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_metodologicas_sistema_grad_e.pdf. Acesso em: 15 jul. 2022.

BRISA: Brazilian Reproducibility Initiative in preclinical Systematic review and meta-Analysis. Universidade do Rio de Janeiro, Brasil, 2018. Disponível em: <https://www.reprodutibilidade.bio.br/brisa>. Acesso em: 08 fev. 2022.

CANTO, Graziela de Luca; STEFANI, Cristine Miron; MASSIGNAN, Carla (org.). **Risco de viés em revisões sistemáticas: guia prático.** Florianópolis: Centro Brasileiro de Pesquisas Baseadas em Evidências – COBE UFSC, 2021. Disponível em: <https://guiariscodeviescobe.paginas.ufsc.br/>. Acesso em: 08 jul. 2022.

CANTO, Graziela de Luca, *et al.* **Revisões sistemáticas da literatura: guia prático.** Curitiba: Brazil Publishing, 2020.

Carvalho EN, Carvalho NAS, Ferreira LM. **Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats.** Acta Cir Bras. 2003; 18:60-4.

COCHRANE. Ferramenta de risco de viés “Cochrane Risk of Bias”: versão 1.0 e versão 2.0 (RoB 2.0), 2022. Disponível em: <https://eme.cochrane.org/ferramenta-de-risco-de-vies-cochrane-risk-of-bias-versao-1-0-e-versao-2-0-rob-2-0/#:~:text=A%20nova%20ferramenta%20avalia%20o,avalia%C3%A7%C3%A3o%20do%20risco%20de%20vi%C3%A9s>. Acesso em: 08 jul. 2022.

DALBEN, Djeisa; EMMEL, João Luís. **A lei Arouca e os direitos dos animais utilizados em experimentos científicos.** Revista Eletrônica de Iniciação Científica. Itajaí, Centro de Ciências Sociais e Jurídicas da UNIVALI. v. 4, n.4, p. 280-291, 2013. Disponível em: <https://www.univali.br/graduacao/direito-itajai/publicacoes/revista-de-iniciacao-cientifica-ricc/edicoes/Lists/Artigos/Attachments/944/Arquivo%2016.pdf>. Acesso em: 08 fev. 2022.

DE CARVALHO, A.; SILVA, V.; GRANDE, A. J. **Avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados pela ferramenta da colaboração Cochrane.** Diagnóstico, Tratamento, v. 18, n. 1, p. 38-44, 2013.

DOKE, Sonali K.; DHAWALE, Shashikant C. **Alternatives to animal testing: A review**. Saudi Pharmaceutical Journal, Vol. 23., n. 3, p. 223-229, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319016413001096>. Acesso em: 14 fev. 2022.

FAGUNDES, Djalma José; TAHA, Murched Omar. **Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente**. Acta Cirúrgica Brasileira, v. 19, p. 59-65, 2004.

FERREIRA, Lydia Masako; HOCHMAN, Bernardo; BARBOSA, Marcus Vinícius Jardini. **Modelos experimentais em pesquisa**. Acta Cirúrgica Brasileira, v. 20, p. 28-34, 2005.

GALVÃO, Taís Freire; PANSANI, Thais de Souza Andrade; HARRAD, David. **Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA**. Epidemiologia e serviços de saúde, v. 24, p. 335-342, 2015.

GALVÃO, Taís Freire; PEREIRA, Mauricio Gomes. **Avaliação da qualidade da evidência de revisões sistemáticas**. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 24, p. 173-175, 2015.

GRADE: The Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation. GRADE Working Group, 2022. Disponível em: <https://www.gradeworkinggroup.org/>. Acesso em: 08 jun. 2022.

GUYATT, Gordon H., *et al.* **GRADE guidelines: 4. Rating the quality of evidence-study limitations (risk of bias)**. Journal of clinical epidemiology, v. 64, n. 4, p. 407-415, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0895435610004130>. Acesso em: 14 fev. 2022.

GUYATT, Gordon H., *et al.* **GRADE guidelines: 11. Making an overall rating of confidence in effect estimates for a single outcome and for all outcomes**. Journal of clinical epidemiology, v. 66, n. 2, p. 151-157, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S089543561200025X>. Acesso em: 14 fev. 2022.

HIGGINS JPT., THOMAS J., CHANDLER J., CUMPSTON M., LI T., PAGE M.J., WELCH VA (editors). **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions**. 2nd Edition. Chichester (UK): John Wiley & Sons, 2019.

HIGGINS, JPT. *et al.* **The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials**. *BMJ*, v. 343, 2011. Disponível em: <https://www.bmj.com/content/bmj/343/bmj.d5928.full.pdf>. Acesso em: 08 fev. 2022.

HOOIJMANS, Carlijn R. *et al.* **SYRCLE's risk of bias tool for animal studies**. *BMC medical research methodology*, vol. 14, n. 1, p. 1-9, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2288-14-43>. Acesso em: 14 fev. 2022.

IPTC: INSTITUTO PARANAENSE DE TERAPIA COGNITIVA. **Guidelines: O que são e Como Utilizar**. Curitiba, [s.d.]. Disponível em: <https://iptc.net.br/guidelines/>. Acesso em: 10 jul. 2022.

KENDALL, Lon V. *et al.* **Replacement, refinement, and reduction in animal studies with biohazardous agents**. *ILAR journal*, v. 59, n. 2, p. 177-194, 2018.

LIMA, J. S.; LA REZA, D.; TEIXEIRA, S.; COSTA, C. **Pesquisa clínica: fundamentos, aspectos éticos e perspectivas**. *Revista da SOCERJ*, v. 16, n. 4, p. 225-233, 2003.

LIU, Tianju.; LOS SANTOS, Francina Gonzales De.; PHAN, Sem H. **The Bleomycin Model of Pulmonary Fibrosis**. *Methods in Molecular Biology*, vol. 1627., p. 27-42, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7113-8_2. Acesso em: 14 fev. 2022.

MATTOS, Paulo de Carvalho. **Tipos de revisão de literatura**. UNESP, São Paulo, v. 2, 2015. Disponível em: <https://www.fca.unesp.br/Home/Biblioteca/tipos-de-evisao-de-literatura.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2022.

MNCTI: “Desenvolvimento de métodos alternativos ao uso de animais faz parte da evolução científica” afirma coordenadora do Conceia. *OrzilNews*, 09 out. 2020. Disponível em: <https://www.orzil.org/noticias/mncti-desenvolvimento-de-metodos-alternativos-ao-uso-de-animais-faz-parte-da-evolucao-cientifica-afirma-coordenadora-do-conceia/>. Acesso em: 25 fev. 2022.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM et al. **OHAT risk of bias rating tool for human and animal studies**. Office of Health Assessment and Translation, 2015. Disponível em: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/ohat/pubs/riskofbiastool_508.pdf. Acesso em: 25 fev. 2022.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. National Center for Biotechnology Information: MeSH “animal model”. Bethesda, MD, EUA, [s.d.]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=animal+model>. Acesso em: 08 fev. 2022.

NC3Rs: National Centre for the Replacement Refinement & Reduction of the Animals in Research. London, UK, [s.d.]. Disponível em: <https://www.nc3rs.org.uk/>. Acesso em 14 fev. 2022.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. OECD Principles of Good Laboratory Practice (GLP) and GLP Compliance Monitoring, [s.d.]. Disponível em: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/overview-of-good-laboratory-practice.htm>. Acesso em: 10 jul. 2022.

OXMAN, Andrew D.; LAVIS, John N.; FRETHEIM, Atle. **Use of evidence in WHO recommendations**. The Lancet, v. 369, n. 9576, p. 1883-1889, 2007.

PANDIS, Nikolaos. Randomization. **Part 3: allocation concealment and randomization implementation**. American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics, v. 141, n. 1, p. 126-128, 2012.

PEREIRA, Mauricio Gomes; GALVÃO, Taís Freire. **Heterogeneidade e viés de publicação em revisões sistemáticas**. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 23, p. 775-778, 2014.

QUENTAL, Cristiane; SALLES FILHO, Sérgio. **Ensaio clínico: capacitação nacional para avaliação de medicamentos e vacinas**. Revista brasileira de Epidemiologia, v. 9, p. 408-424, 2006.

ROBINSON, N. Bryce, et al. **The current state of animal models in research: A review**. International Journal of Surgery. vol. 72, p. 9-13, 2019.

ROONEY, Andrew A.; BOYLES, Abee L.; WOLFE, Mary S.; BUCHER, John R.; THAYER, Kristina A. **Systematic review and evidence integration for literature-based environmental health science assessments.** *Environ Health Perspect*, v. 122, n. 7, p. 711–718, 2014.

SAMPAIO, Rosana Ferreira; MANCINI, Marisa Cotta. **Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica.** *Brazilian Journal of Physical Therapy*, v. 11, p. 83-89, 2007.

SCHULZ, Kenneth F.; GRIMES, David A. **Generation of allocation sequences in randomised trials: chance, not choice.** *The Lancet*, v. 359, n. 9305, p. 515-519, 2002.

SCHÜNEMANN, Holger J.; BRÖZEK, Jan; GUYATT, Gordon; OXMAN, Andrew. **Handbook for grading the quality of evidence and the strength of recommendations using the GRADE approach.** Atualizado em Outubro, 2013. Disponível em: <https://gdt.gradepro.org/app/handbook/handbook.html>. Acesso em: 14 fev. 2022.

SCHÜNEMANN, Holger J. *et al.* **Letters, numbers, symbols and words: how to communicate grades of evidence and recommendations.** *Cmaj*, v. 169, n. 7, p. 677-680, 2003.

SILVA, Wesley Mendes. **Contribuições e limitações de revisões narrativas e revisões sistemáticas na área de negócios.** *Revista de Administração Contemporânea*, v. 23, p. 1-11, 2019.

TANNENBAUM, Jerrold; BENNETT, B. Taylor. **Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose.** *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, v. 54, n. 2, p. 120-132, 2015.

TOMA, Tereza Setsuko *et al.* **Avaliação de tecnologias de saúde & políticas informadas por evidências.** São Paulo: Instituto de Saúde, 2017.

VAN TONGEREN, Susan *et al.* **The role of the toxicologic pathologist in the biopharmaceutical industry.** *International Journal of Toxicology*, v. 30, n. 5, p. 568-582, 2011.

WEI, Dang *et al.* **The use of GRADE approach in systematic reviews of animal studies.** Journal of Evidence-Based Medicine, v. 9, n. 2, p. 98-104, 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jebm.12198>. Acesso em: 25 fev. 2022.

Whats is Grade?. BMJ Best Practice, 2022. Disponível em: <https://bestpractice.bmj.com/info/toolkit/learn-ebm/what-is-grade/>. Acesso em: 25 jul. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **WHO practice guidelines: recommended processes.** WHO, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **WHO handbook for guideline development.** WHO, 2014.

YE, Xinjian *et al.* **Does Low-Magnitude High-Frequency Vibration (LMHFV) Worth for Clinical Trial on Dental Implant? A Systematic Review and Meta-Analysis on Animal Studies.** Front. Bioeng. Biotechnol, v. 9, 2021.