

**C A M E V E T**  
**Cod:000**  
**TRÁMITE: II**  
**FECHA: Enero de 2014**

## SEGURIDAD DE VACUNAS EN BOVINOS

### Guía para estudios con vacunas inactivadas.



**Guía n° 4 - G.B**

---

REPRESENTACIÓN REGIONAL DE LA OIE PARA LAS AMÉRICAS.

Paseo Colón 315, 5to. Piso "D" (C1063ACD), Buenos Aires, Argentina

Tel: (54-11) 4331-3919 / 5158 - Fax: (54-11) 4331-5162

e-mail: [rr.americas@oie.int](mailto:rr.americas@oie.int) Web: <http://www.rr.americas.oie.int>

## 1. INTRODUCCIÓN

Las vacunas inactivadas que se aplican en bovinos constan básicamente de un componente antigénico: virus y/o bacterias completos, subunidades de los mismos, o toxoides, presentados en forma monovalente ó combinada y un componente de efecto adyuvante ( diversos principios en solución acuosa ó emulsiones ). A diferencia de los medicamentos farmacéuticos, la Fórmula Patrón de las vacunas no es completamente definible, debido a la compleja composición de virus y bacterias. Por otra parte, los ensayos de potencia normatizados para diversas vacunas bacterianas (Leptospirosis, Clostridiosis, Pasteurelosis, etc. ) se efectúan mediante desafío en animales de laboratorio, por lo cual durante el desarrollo de tales vacunas es factible que no se hayan probado en bovinos. Por los motivos antes enunciados, la prueba de seguridad en bovinos adecuadamente registrada es una instancia ineludible para cada nueva vacuna que se presente para solicitar registro ó licencia.

El continuo avance en la armonización de estándares internacionales permite disminuir las repeticiones de los estudios de seguridad en la especie de destino, evitando efectuar el mismo estudio en varios países. De este modo, no solamente se reducen los costos de investigación sino el número de animales involucrados, contemplando los principios de bienestar animal.

Esta guía fue elaborada en base a normas vigentes tanto en América como en la Unión Europea, con la intención de proporcionar conceptos unificados que permitan la aceptación de los datos de seguridad por parte de las autoridades regulatorias.

## 2. OBJETIVO

El objetivo de la guía es proporcionar recomendaciones para la realización de estudios para evaluar la seguridad de las formulaciones finales de vacunas inactivadas para bovinos y aplica a lotes a escala de laboratorio (vacunas experimentales), escala piloto y vacunas para registro, reunidas en la sigla LPR.

## 3. ALCANCE

El marco de aplicación de la guía se limita a evaluaciones del estado de salud y bienestar de los bovinos, a los cuales se les aplica un protocolo de vacunación acorde con las indicaciones de conservación y administración indicadas por el elaborador. Las recomendaciones de la guía se dirigen a los laboratorios elaboradores de vacunas inactivadas para bovinos, para las etapas de desarrollo y lotes piloto previos a la solicitud de licencia del producto, así como evaluaciones de producto terminado que sean requeridas oportunamente. El alcance de la guía no contempla los estudios de seguridad de cada lote comercial de las vacunas, los cuales se efectúan en animales de laboratorio (9.CFR ,113.33 y 113.38) o mediante la demostración documental de consistencia de manufactura en paralelo con estudios en bovinos (VICH. GL 50)

## 4. TERMINOS Y DEFINICIONES

- ❖ **Seguridad.-** En esta guía el término seguridad (en inglés *safety*) se emplea como sinónimo de **inocuidad**, término definido en el Glosario de CAMEVET como: “*Propiedad de un producto veterinario que indica que su correcta administración a la especie que se lo destina no determinará la presentación de efectos adversos en una proporción estadísticamente significativa*”. En algunos documentos de países de habla hispana se emplea también el término

**tolerancia**, con el mismo significado (MAPA Brasil, 2008 y SENASA, Argentina, 2006).

- ❖ **Efecto adverso:** Cualquier observación desfavorable que se sospeche esté relacionada con la LPR en cuestión.
- ❖ **Lote Piloto:** Lote de una vacuna elaborado a través de un procedimiento representativo del que se aplicará a escala industrial. Los métodos de elaboración deben ser idénticos, excepto por la escala de producción.
- ❖ **Dosificación:** Volumen , número e intervalo entre las dosis.
- ❖ **Categoría:** Subgrupo de bovinos que tienen en común características como edad, estado reproductivo y tipo de producción (terneros/as, vaquillonas, vacas lecheras, novillos, toros, etc.)
- ❖ **Lote de producción:** Lote de vacuna elaborado en las instalaciones de producción donde realmente se elaborará a través del método descrito en la solicitud de registro.
- ❖ **Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).**- Aplicación de procedimientos estandarizados para el diseño, realización, toma de datos, , análisis e informe de estudios no clínicos. El cumplimiento de los procedimientos estandarizados garantiza que los datos y los resultados informados sean completos, correctos y precisos.
- ❖ **Buenas Prácticas Clínicas (BPC).**- Aplicación de procedimientos estandarizados para el diseño, captura de datos, análisis de los mismos e informe de estudios clínicos. El cumplimiento de los procedimientos estandarizados garantiza que los datos y los resultados informados sean completos, correctos y precisos.
- ❖ **Estudio de seguridad de laboratorio:** Estudio clínico realizado con las LPR bajo condiciones controladas, siguiendo las indicaciones del elaborador para demostrar seguridad en bovinos. Se realizan antes de los estudios de seguridad a campo.
- ❖ **Estudio de seguridad a campo:** Estudio clínico realizado con la vacuna en condiciones reales de utilización y siguiendo las indicaciones del elaborador para demostrar seguridad en bovinos.
- ❖ **Control Negativo:** Animales sanos no tratados o que son inoculados con placebo.
- ❖ **Control Positivo:** Animales sanos a los que se les administra una vacuna similar, que normalmente está registrada en el país en el que se realiza el estudio. Ese producto es elegido por el elaborador y está indicado para la misma enfermedad y especie de destino para la cual será destinada la LPR que se está probando.

- ❖ **Estudio a ciegas:** Procedimiento en el cual el personal designado para el estudio desconoce la asignación al tratamiento, a fin de reducir posibles sesgos en el estudio.
- ❖ **Evento adverso:** Cualquier observación desfavorable y no intencionada que ocurre luego del uso de una LPR, se considere o no relacionada con el producto.
- ❖ **Protocolo:** Documento que describe exhaustivamente el (los) objetivo(s), diseño, metodología, consideraciones estadísticas y organización de un estudio. El documento es firmado y fechado por todos los responsables que intervienen en el ensayo. El protocolo también puede proporcionar los antecedentes y fundamentos del estudio, si bien éstos pueden estar disponibles en otros documentos, que son referenciados en el protocolo del estudio. El término incluye todas las enmiendas al mismo.

## 5. RECOMENDACIONES GENERALES

Para la planificación de los estudios de seguridad de vacunas en bovinos, debe tenerse en cuenta la información disponible, tal como el tipo de vacuna, naturaleza de los adyuvantes, excipientes, dosis y régimen propuesto, información contenida en la etiqueta, antecedentes de uso previo de productos similares, categoría de destino y raza. Y todo dato sobre seguridad que se haya registrado durante las etapas de desarrollo del producto.

Los datos mencionados son importantes para sustentar el diseño de los estudios de seguridad, definiendo los parámetros críticos que deben ser evaluados.

Se acepta que los datos sobre estudios de seguridad con vacunas combinadas pueden utilizarse para demostrar la seguridad de vacunas del mismo elaborador que contengan menor cantidad y/o concentración de fracciones antigénicas, siempre y cuando los componentes restantes sean idénticos en cada caso y sea sólo la cantidad de antígenos lo que disminuye en una formulación ulterior.

Los eventos adversos deben describirse e incluirse en el informe final intentando determinar la causalidad de los mismos

## 6. GUIA PARA LA EJECUCIÓN DE LOS ESTUDIOS

Los procedimientos recomendados a continuación, refieren a Estudios de Seguridad de Laboratorio, Estudios de Seguridad de Campo y Estudios de Seguridad Reproductiva.

### 6.a) PROCEDIMIENTOS ESTÁNDAR

Los estudios de seguridad en bovinos deben realizarse y dirigirse de conformidad con los principios de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL),

Buenas Prácticas Clínicas (BPC) y normas de bienestar animal, internacionalmente aceptadas.

## 6.b) ESTUDIOS DE SEGURIDAD DE LABORATORIO

Los estudios de seguridad de laboratorio constituyen la primera etapa en la evaluación del atributo de seguridad y proporcionan información básica para la segunda etapa, los estudios de campo.

Se deben utilizar animales de edad, sexo y categoría para los cuales la vacuna es recomendada. Los animales tratados y de control deben ser sometidos al mismo manejo y a las mismas condiciones ambientales. Todos los animales deben poseer identificación individual inequívoca.

Las instalaciones deben ser adecuadas para el propósito del estudio y cumplir con las normas locales de bienestar animal. Se recomienda el ingreso de los animales al lugar del estudio con una semana de antelación para su aclimatación. Cualquier tratamiento sanitario debe realizarse y registrarse antes del inicio del estudio. Es esencial reducir o eliminar el sufrimiento durante el ensayo. Se recomienda la eutanasia y necropsia de los animales moribundos.

Los parámetros esenciales que deben ser evaluados para la seguridad son: observación clínica de los animales, reacciones locales y sistémicas atribuibles a la vacuna y su resolución, así como los efectos de la vacuna sobre la reproducción, cuando corresponda. El protocolo del estudio deberá ser detallado e incluir las planillas adecuadas para la captura de datos.

Pueden requerirse estudios complementarios como hemogramas, química sanguínea, necropsia o examen histológico. Cuando esos estudios se realicen en un subgrupo de animales, esos animales deben ser seleccionados aleatoriamente con un tamaño de muestra adecuado antes del inicio del estudio para evitar sesgos, a menos que se justifique lo contrario. Las muestras deben seleccionarse apropiadamente a fin de que, en caso de presentarse reacciones o resultados inesperados, pueda determinarse la causa del problema observado. El personal involucrado en los estudios, deben desconocer la asignación de los grupos en ensayo para minimizar sesgos.

El protocolo de trabajo variará según corresponda.

- Estudios con dosis única o con dosis repetidas

Los estudios se debe realizar con las LPR que contengan la concentración antigénica máxima declarada o, en caso de que no esté especificada se puede emplear un múltiplo de la concentración antigénica mínima.

Para aquellas vacunas cuya indicación es la primovacuna seguida por una dosis de refuerzo (2ª dosis), se aplicará el intervalo más corto del régimen de vacunación recomendado por el elaborador. Por razones de practicidad, se puede reducir ese intervalo hasta no menos de 14 días.

En general, a menos que se justifique otra alternativa, se deben usar 8 animales por grupo. Se debe aplicar la LPR en la categoría para la cual se indica la vacunación.

Si se especifican múltiples vías y métodos de administración para el producto en cuestión, se recomienda la administración a través de todas las vías. Si una vía de administración ha demostrado causar los efectos más severos, se puede seleccionar sólo esa vía para el estudio.

- Estudios con sobredosis

Cuando se considere pertinente, se llevará a cabo la aplicación de una sobredosis de vacuna, por cada una de las vías indicadas y en la categoría/s indicada/s por el elaborador. Para el caso de las vacunas inactivadas, se establece como estudio de sobredosis a la administración del doble de la dosis indicada, en una aplicación (E.P. 7.0, 2013)

- Recolección de datos

Se deben realizar observaciones clínicas diarias durante 14 días post-vacunación, tratando de respetar el mismo horario de observación. Además, se deben registrar observaciones clínicas y criterios relevantes, como temperatura rectal o evaluación del desempeño (ganancia de peso diaria, producción láctea y otros), durante ese período de observación con la frecuencia correspondiente. Se deben examinar los sitios de inyección a diario o a intervalos justificables, por medio de inspección, palpación y medición, hasta como mínimo 14 días después de la administración de la LPR en estudio. Cuando se presenten reacciones adversas en el sitio de inyección al término de los 14 días, el período de observación se extenderá hasta alcanzar una resolución aceptable de la lesión o, si correspondiera, hasta que el animal sea sacrificado y se realice un examen histopatológico.

Siempre que se cuente con antecedentes de vacunas similares, es conveniente fijar criterios de aceptación (hipertermia hasta determinado tiempo, tamaño aceptable de reacciones locales, etc.). Al momento de diseñar las planillas de registro es conveniente asignar una codificación para el tamaño de los eventuales nódulos en el sitio de la inoculación, así como prever el registro de la duración de las eventuales reacciones sistémicas y locales así como el modo de resolución de estas últimas.

- Análisis estadístico

En los estudios de laboratorio, los resultados sobre seguridad son mejor abordados aplicando estadística descriptiva a los datos. Las tablas y textos descriptivos son métodos comunes para resumir los datos; sin embargo, también pueden resultar útiles las presentaciones gráficas en las que se visualizan los eventos adversos tanto dentro del tratamiento como entre individuos. En los estudios de campo, si correspondiera, la selección del protocolo a emplear para el modelo estadístico y los factores a incluirse en el modelo dependerán de la naturaleza de la variable de respuesta que se analiza y del diseño del estudio. Cualquiera fuera el método elegido, se debe describir el proceso y los pasos seguidos para realizar cualquier evaluación estadística. Los resultados de los análisis de los datos deben presentarse con claridad para facilitar la identificación de problemas de seguridad potenciales. La terminología y los métodos de presentación deben elegirse para clarificar los resultados y agilizar la interpretación.

Aún cuando puede resultar interesante el enfoque de la hipótesis nula de no-diferencia entre grupo tratado y grupo no tratado, el diseño del estudio restringe el poder estadístico y la capacidad discriminadora de esos estudios. Bajo tales condiciones, el análisis estadístico sólo, puede resultar incapaz de detectar efectos adversos potenciales y ofrecer conclusiones de seguridad

garantizada. Un ensayo estadísticamente significativo no significa necesariamente que existe un problema de seguridad en la vacuna probada. Del mismo modo, un ensayo sin diferencias significativas, no indica necesariamente la ausencia de problemas de seguridad.

Por lo tanto, los resultados deben evaluarse en base a estudios estadísticos, pero las interpretaciones estarán sujetas a criterios médico-veterinarios. En ausencia de requisitos regulatorios específicos, se recomienda fijar criterios de aceptación o rechazo.

#### 6.c) ESTUDIOS DE SEGURIDAD REPRODUCTIVA

Se debe considerar la realización de exámenes de desempeño reproductivo en animales en etapa reproductiva cuando los datos sugieran que el material de partida de la vacuna puede ser un factor de riesgo. Se requieren los estudios de laboratorio acompañados de los estudios de seguridad de campo, para avalar el uso en animales de reproducción. Si no se llevan a cabo estudios de seguridad reproductiva, se debe incluir una declaración de exclusión en la etiqueta, a menos que se justifique científicamente la ausencia de riesgo para el uso de la LPR en animales en etapa reproductiva.

Para el examen de seguridad reproductiva, los animales apropiados para el propósito del estudio serán vacunados al menos con la dosis recomendada de acuerdo con el esquema de vacunación indicado. Si se especifican múltiples vías y formas de administración para el producto en cuestión, se recomienda la administración a través de todas las vías. Si una vía de administración ha demostrado causar los efectos más serios, se puede seleccionar sólo esa vía para el estudio. En general y a menos que se justifique otra alternativa, se deben usar 8 animales por grupo. Los animales deben ser observados durante un período razonable para determinar la seguridad reproductiva, incluso se deben realizar observaciones de seguridad diarias. Las excepciones deben estar justificadas. Se debe incluir un grupo control.

Las vacunas recomendadas para uso en animales en etapa de gestación deben ser testeadas como se describe arriba en cada una de las etapas específicas de gestación indicadas por el elaborador. Se solicitará una declaración de exclusión para los períodos de gestación no testeados. El período de observación debe extenderse hasta la parición, para examinar cualquier efecto durante la gestación, parto y neonato. Las excepciones deben estar justificadas.

Cuando esté científicamente avalado, se pueden solicitar estudios complementarios para determinar el/los efecto(s) de la LPR en el semen. El período de observación debe ser apropiado para el propósito del estudio.

#### 6.d) ESTUDIOS DE SEGURIDAD A CAMPO

Cuando la epidemiología de la enfermedad a prevenir y el sistema de producción sean similares en distintas regiones o países, se pueden usar los datos internacionales de estudios a campo, siempre y cuando sea aceptado por las autoridades regulatorias. El elaborador es responsable de garantizar que los estudios a campo se realicen en sistemas de producción

representativos de las regiones o países para las que se busca la aprobación. Se debe obtener autorización correspondiente de las autoridades sanitarias antes de iniciar el estudio. Se recomienda consultar a las autoridades regulatorias acerca del diseño del estudio antes de comenzar.

Si la vacuna está indicada para animales en etapa reproductiva, se deben realizar estudios de seguridad a campo adecuados para demostrar la seguridad de la LPR en condiciones de campo.

- **Animales y Lugares de ensayo**

Los bovinos deben estar en el rango de edad y categoría a los cuales está destinada la vacuna. El estado inmunitario previo puede ser considerado, si bien no es una condición excluyente. Se debe incluir un grupo control.

Se recomienda efectuar los estudios de seguridad en dos o más regiones geográficas distintas. Se debe(n) utilizar la(s) dosis y vía(s) de vacunación recomendadas. Los estudios deben realizarse con lote(s) representativo(s) de la escala industrial de la vacuna.

## **7. INFORME FINAL**

Los procedimientos deben quedar registrados en protocolos de trabajo siguiendo las normas de buenas prácticas clínicas (BPC). Las observaciones deben realizarse durante un período de tiempo apropiado para la LPR y los eventos adversos deben documentarse e incluirse en el informe final. Se deberá intentar en la medida de lo posible determinar la causalidad de los eventos adversos.

## **8. REFERENCIAS**

- CAMEVET . Documento GLO 001: Glosario de Términos.
- Code of Federal Regulations (CFR) 9 . Animal and Animal Products. 113.38. Guinea Pig Safety Test. Sept. 2013
- Code of Federal Regulations (CFR) 9 . Animal and Animal Products. 113.33. Mouse Safety Tests. Sept. 2013
- European Pharmacopoeia 7.0 (2013). 5.2.6. Evaluation of safety of Veterinary Vaccines and Immunoserum.
- M.A.P.A. Brasil. Normativa 50 , 23/9/2008. Regulamento técnico para produção, controle da qualidade, comercialização e emprego de vacinas contra a febre aftosa.
- OIE. Manual de pruebas de Diagnóstico y Vacunas para los Animales Terrestres, 2012. Cap. 2.4.13 .



- SENASA, Argentina. Resol. 351 /2006. Actualización de la reglamentación que permite el control de las vacunas destinadas a la prevención de la Fiebre Aftosa.
- VICH. GL 44: Target animal safety for live and inactivated vaccines. Jul. 2008
- VICH. GL 50: Harmonization of criteria to waive Target Animal Safety Testing on Inactivated Vaccines for veterinary use. Feb. 2013

## 9. AUTORES

- Argento, Enrique. Cámara Argentina de la Industria de Productos Veterinarios (CAPROVE). Argentina
- Gleser, Hugo. Cámara de Laboratorios Argentinos Medicinales Veterinarios (CLAMEVET) . Argentina
- Ham, Alejandro. CAPROVE. Argentina
- Ióppolo, Marianna. CAPROVE. Argentina
- Mórtola, Eduardo. Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata. Argentina
- Ostermann, Juan Walter. CAPROVE. Argentina
- Pardo, Javier. Fundación PROSAIA. Argentina-
- Parreño, Viviana. Instituto de Virología. CICVyA – INTA. Argentina
- Smitsaart, Eliana. CAPROVE .Argentina
- Vena, María Marta. Fundación PROSAIA. Argentina. Coordinadora del Grupo de Trabajo de CAMEVET para la guía de Seguridad en Bovinos con Vacunas Inactivadas.