

C A M E V E T
Cod:000
TRÁMITE: II
DATA: Janeiro de 2014

SEGURANÇA DE VACINAS EM BOVINOS

Guia para estudos com vacinas inativadas.



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 Web: <http://www.rr.americas.oie.int>

1. INTRODUÇÃO

As vacinas inativadas que são aplicadas em bovinos constam basicamente de um componente antigênico: vírus e/ou bactérias completos, subunidades dos mesmos, toxoides em forma monovalente ou combinada e um componente de efeito adjuvante (diversos princípios em solução aquosa ou emulsões). Diferentemente dos medicamentos farmacêuticos, a Fórmula Padrão das vacinas não é completamente definível, devido à complexa composição de vírus e bactérias. Por outro lado, os ensaios de potência normatizados para diversas vacinas bacterianas (Leptospirose, Clostridiose, Pasteurelose, etc.) se efetuam mediante testes em animais de laboratório, motivo pelo qual durante o desenvolvimento de tais vacinas é possível que não tenham sido provadas em bovinos. Pelos motivos antes enunciados, o teste de segurança em bovinos adequadamente registrado é uma instância obrigatória para cada nova vacina que for apresentada para solicitar registro ou licença.

O contínuo avanço na harmonização de padrões internacionais permite diminuir as repetições dos estudos de segurança na espécie de destino, evitando-se efetuar a mesma pesquisa em vários países. Deste modo, não somente são reduzidos os custos de pesquisa mas também o número de animais envolvidos, contemplando os princípios de bem-estar animal.

Este guia foi elaborado tendo como base normas vigentes tanto na América como na União Europeia, com a intenção de proporcionar conceitos unificados que permitam a aceitação dos dados de segurança por parte das autoridades regulatórias.

2. OBJETIVO

O objetivo deste guia é proporcionar recomendações para a realização de estudos que atestem a segurança das formulações finais de vacinas inativadas para bovinos e aplicá-las a lotes em escala de laboratório (vacinas experimentais), escala piloto e vacinas para registro, reunidas na sigla LPR.

3. ALCANCE

O âmbito de aplicação da guia se limita a apreciações do estado de saúde e bem estar dos bovinos, aos quais é aplicado um protocolo de vacinação de acordo com as indicações de conservação e administração indicadas pelo elaborador. As recomendações da guia se dirigem aos laboratórios elaboradores de vacinas inativadas para bovinos, para as etapas de desenvolvimento e lotes piloto prévios a solicitação de licença do produto, assim como apreciações do produto terminado que sejam requeridas oportunamente. O alcance da guia não contempla os estudos de segurança de cada lote comercial das vacinas, os quais se efetuam em animais de laboratório (9. CFR, 113.33 e 113.38) ou mediante a demonstração documental de consistência de elaboração em paralelo com estudos em bovinos (VICH. GL 50).

4. TERMOS E DEFINIÇÕES

- ❖ **Segurança.** - Nesta guia o termo segurança (em inglês *safety*) se emprega como sinônimo de **inocuidade**, termo definido no Glossário de CAMEVET como: *“Propriedade de um produto veterinário que indica que sua correta administração na espécie a que se destina não determinará a apresentação de efeitos adversos em uma proporção estatisticamente significativa”*. Em alguns documentos de países de fala hispânica se emprega também o termo **tolerância**, com o mesmo significado (MAPA Brasil, 2008 e SENASA, Argentina, 2006).
- ❖ **Efeito adverso:** Q u a l q u e r observação desfavorável que se suspeite está relacionada com a LPR em questão.
- ❖ **Lote Piloto:** Lote de uma vacina elaborada através de um procedimento representativo o qual se aplicará a escala industrial. Os métodos de elaboração devem ser idênticos, exceto pela escala de produção.
- ❖ **Dosificação:** Volume, número e intervalo entre as doses.
- ❖ **Categoria:** Subgrupo de bovinos com características comuns como idade, estado reprodutivo e tipo de produção (bezerros/as, vacas de corte, vacas leiteiras, novilhos, touros, etc.).
- ❖ **Lote de produção:** Lote de vacina elaborado nas instalações de produção onde realmente será fabricado através do método descrito na solicitação de registro.
- ❖ **Boas Práticas de Laboratório (BPL).** - Aplicação de procedimentos padrões para o desenho, realização, tomada de dados, análise e informação de estudos não clínicos. O cumprimento dos procedimentos padronizados garante que os dados e os resultados informados sejam completos, corretos e precisos.
- ❖ **Boas Práticas Clínicas (BPC).** - Aplicação de procedimentos padronizados para o desenho, captura de dados, análise dos mesmos e relatório de estudos clínicos. O cumprimento e os procedimentos padronizados garante que os dados e os resultados informados sejam completos, corretos e precisos.
- ❖ **Estudo de segurança de laboratório:** Estudo clínico realizado com as LPR em condições controladas, seguindo as indicações do elaborador para demonstrar segurança em bovinos. Realizam-se antes dos estudos de segurança em campo.
- ❖ **Estudo de segurança em campo:** Estudo clínico realizado com a vacina em condições reais de utilização e seguindo as indicações do elaborador para demonstrar segurança em bovinos.
- ❖ **Controle Negativo:** Animais sadios não tratados ou que são inoculados com placebo.
- ❖ **Controle Positivo:** Animais sadios nos quais se administra uma vacina similar, que normalmente está registrada no país em que se realiza o estudo. Esse produto é escolhido pelo elaborador e está indicado para a mesma enfermidade e espécie de destino para a qual será destinada a LPR que está sendo testada.

- ❖ **Estudo cego:** Procedimento em que o pessoal designado para o estudo desconhece a indicação ao tratamento, a fim de reduzir possíveis vieses no estudo.
- ❖ **Evento adverso:** Qualquer observação desfavorável e não intencionada que ocorre após o uso de uma LPR poderá ser relacionada ou não ao produto.
- ❖ **Protocolo:** Documento que descreve exhaustivamente o(s) objetivo(s), desenho, metodologia, considerações estatísticas e organização de um estudo. O documento é assinado e datado por todos os responsáveis que intervêm no ensaio. O protocolo também pode proporcionar os antecedentes e fundamentos do estudo, embora estes possam estar disponíveis em outros documentos, que são referenciados no protocolo de estudo. O termo inclui todas as emendas ao mesmo.

5. RECOMENDAÇÕES GERAIS

Para a planificação dos estudos de segurança de vacinas em bovinos, deve ser levada em conta a informação disponível, tal como o tipo de vacina, natureza dos adjuvantes, excipientes, doses e regime proposto, informação contida na etiqueta, antecedentes de uso prévio de produtos similares, categoria de destino e raça. E todo dado sobre segurança que tenha sido registado durante as etapas de desenvolvimento do produto.

Os dados mencionados são importantes para sustentar o desenho dos estudos de segurança, definindo os parâmetros críticos que devem ser avaliados.

Aceita-se que os dados sobre estudos de segurança com vacinas combinadas podem ser utilizados para demonstrar a segurança de vacinas do mesmo elaborador que contenham menor quantidade e ou concentração de frações antigénicas, desde que os componentes restantes sejam idênticos em cada caso e seja só a quantidade de antígenos o que diminui em uma formulação ulterior.

Os eventos adversos devem ser descritos e incluídos no relatório final tentando determinar a causalidade dos mesmos.

6. GUIA PARA A EXECUÇÃO DOS ESTUDOS

Os procedimentos recomendados a seguir referem-se a Estudos de Segurança de Laboratório, Estudos de Segurança de Campo e Estudos de Segurança Reprodutiva.

6.a) PROCEDIMENTOS PADRÃO

Os estudos de segurança em bovinos devem ser realizados e dirigidos em conformidade com os princípios de Boas Práticas de Laboratório (BPL), Boas Práticas Clínicas (BPC) e normas de bem estar animal, internacionalmente aceites.

6.b) ESTUDOS DE SEGURANÇA DE LABORATÓRIO

Os estudos de segurança de laboratório constituem a primeira etapa na avaliação do atributo de segurança e proporcionam informação básica para a segunda etapa, que será a dos estudos de campo.

Devem ser utilizados animais de idade, sexo e categoria para os quais a vacina é recomendada. Os animais tratados e controlados devem ser submetidos ao mesmo tratamento e às mesmas condições ambientais. Todos os animais devem possuir identificação individual inequívoca.

As instalações devem ser adequadas para o propósito do estudo e cumprir com as normas locais de bem-estar animal. Recomenda-se o ingresso dos animais ao lugar do estudo com uma semana de antecedência para sua aclimatação. Qualquer tratamento sanitário deve ser realizado e registrado antes do início do estudo. É essencial reduzir ou eliminar o sofrimento durante o ensaio. Recomenda-se a eutanásia e necropsia dos animais moribundos.

Os parâmetros essenciais que devem ser avaliados para a segurança são: observação clínica dos animais, reações locais e sistêmicas atribuíveis à vacina e sua resolução, assim como os efeitos da vacina sobre a reprodução, quando for o caso. O protocolo do estudo deverá ser detalhado e incluir as planilhas adequadas para a captura de dados.

Podem ser requeridos estudos complementares, como hemogramas, química sanguínea, necropsia ou exame histológico. Quando esses estudos forem realizados em um subgrupo de animais, esses animais devem ser selecionados aleatoriamente com um tamanho de amostra adequado antes do início do estudo para evitar vieses, a menos que se justifique o contrário. As amostras devem ser selecionadas apropriadamente a fim de que, em caso de apresentarem reações ou resultados inesperados, seja possível determinar a causa do problema observado.

O pessoal envolvido nos estudos deve desconhecer a indicação dos grupos de ensaio para minimizar vieses.

O protocolo de trabalho variará de acordo com cada situação.

- **Estudos com dose única ou com dose repetida**

Os estudos com dose única/repetida devem ser realizados com as LPR que contenham a concentração antigénica máxima declarada ou, se não estiver especificada, pode-se empregar um múltiplo da concentração antigénica mínima.

Para aquelas vacinas cuja indicação é a primovacinação seguida por uma dose de reforço (2ª dose), vigorará o intervalo mais curto do regime de vacinação recomendado pelo elaborador. Por razões de praticidade, esse intervalo não pode ser reduzido a menos de 14 dias.

Em geral, a menos que se justifique outra alternativa, deve-se usar 8 animais por grupo. Deve-se utilizar a categoria, idade e sexo mais sensível proposto na etiqueta.

Caso se especifique múltiplas vias e métodos de administração para o produto em questão, recomenda-se a administração através de todas as vias. Se uma via de administração demonstrou causar efeitos mais sérios, pode-se selecionar somente essa via para estudo.

- **Estudos com superdose**

Quando se considerar pertinente, será aplicada uma superdose de vacina, por cada uma das vias indicadas e na categoria mais susceptível entre as indicadas pelo elaborador. Para o caso das vacinas inativadas, estabelece-se como estudo de superdose a administração do dobro da dose indicada, em uma aplicação (E.P. 7.0, 2013).

- **Compilação de dados**

Devem ser realizadas observações clínicas diárias durante 14 dias pós-vacinação, respeitando-se o mesmo horário de observação. Também devem ser registradas observações clínicas e critérios relevantes, como temperatura retal ou medição do desempenho (ganho de peso diário, produção láctea e outros), durante esse período de observação com a frequência correspondente. Devem ser examinados diariamente os locais onde foram injetadas as vacinas ou a intervalos justificáveis, por meio de inspeção, palpação e medição, até no mínimo 14 dias depois da administração da LPR em estudo. Quando surgirem reações adversas no local da injeção depois dos 14 dias, o período de observação se estenderá até alcançar uma resolução aceitável da lesão ou, se for o caso, até que o animal seja sacrificado e seja realizado um exame histopatológico.

Sempre que se contar com antecedentes de vacinas similares, é conveniente fixar critérios de aceitação (hipertermia até determinado tempo, tamanho aceitável de reações locais, etc.). No momento da confecção de planilhas de registro é conveniente prever a anotação sobre a duração das eventuais reações sistêmicas e locais, assim como o modo de resolução destas últimas.

- **Análise estatística**

Nos estudos de laboratório, os resultados sobre segurança são mais bem abordados aplicando-se estatística descritiva aos dados. As planilhas e textos descritivos são métodos comuns para resumir os dados; no entanto, também podem ser úteis as apresentações gráficas nas quais se visualizam os eventos adversos tanto dentro do tratamento como entre indivíduos. Nos estudos de campo, caso seja necessário, a seleção do protocolo a ser empregado para o modelo estatístico e os fatores a serem incluídos no modelo dependerão da natureza e da variável de respostas que se analisa e do desenho do estudo. Qualquer que seja o método escolhido deve-se descrever o processo e os passos seguidos para a realização de qualquer avaliação estatística. Os resultados das análises dos dados devem ser apresentados

com clareza para facilitar a identificação de problemas potenciais de segurança. A terminologia e os métodos de apresentação devem ser escolhidos para clarificar os resultados e agilizar a interpretação.

Mesmo que seja interessante o enfoque da hipótese nula de não-diferença entre grupo tratado e grupo não tratado, o desenho do estudo restringe o poder estatístico e a capacidade discriminatória desses estudos. Sob tais condições, a análise estatística sozinha, pode ser incapaz de detectar efeitos adversos potenciais e oferecer conclusões de segurança garantida. Um ensaio estatisticamente significativo não significa necessariamente que exista um problema de segurança na vacina provada. Do mesmo modo, um ensaio sem diferenças significativas, não indica necessariamente a ausência de problemas de segurança.

Portanto, os resultados devem ser avaliados com base em estudos estatísticos, mas as interpretações estarão sujeitas a critérios médico-veterinários.

6.c) ESTUDOS DE SEGURANÇA REPRODUTIVA

Deve-se considerar a realização de exames de desempenho reprodutivo em animais em etapa reprodutiva quando os dados sugerirem que o material de partida da vacina pode ser um fator de risco. Solicitam-se os estudos de laboratório acompanhados dos estudos de segurança de campo, para avaliar o uso em animais de reprodução. Se não se levem a cabo estudos de segurança reprodutiva, deve-se incluir uma declaração de exclusão na etiqueta, a menos que se justifique cientificamente a ausência de risco para o uso da LPR em animais em etapa reprodutiva.

Para o exame de segurança reprodutiva, os animais apropriados para o propósito do estudo serão vacinados ao menos com a dose recomendada de acordo com o esquema de vacinação indicado. Se forem especificadas múltiplas vias e formas de administração para o produto em questão, recomenda-se a administração através de todas as vias. Se uma via de administração demonstrou ter causado efeitos mais sérios, pode-se selecionar somente essa via para o estudo. Em geral e a menos que se justifique alternativa, devem ser usados 8 animais por grupo. Os animais devem ser observados durante um período razoável para determinar a segurança reprodutiva, inclusive devem ser realizadas observações de segurança diárias. As exceções devem estar justificadas. Deve-se incluir um grupo controle.

As vacinas recomendadas para uso em animais em etapa de gestação devem ser testadas como descrito acima em cada uma das etapas específicas de gestação indicadas pelo elaborador. Será solicitada uma declaração de exclusão para os períodos de gestação não testados. O período de observação deve se estender até a parição, para examinar qualquer efeito durante a gestação, parto e no recém-nascido. As exceções devem estar justificadas.

Quando for cientificamente avaliado, podem-se solicitar estudos complementares para determinar o/os efeito(s) da LPR no sêmen. O período de observação deve ser apropriado para o propósito do estudo.

6.d) ESTUDOS DE SEGURANÇA EM CAMPO

Quando a epidemiologia da enfermidade a prevenir e o sistema de produção forem similares em distintas regiões ou países, podem ser usados os dados internacionais de estudos em campo, desde que seja aceitável pelas autoridades regulatórias. O elaborador é responsável pela garantia de que os estudos em campo se realizem em sistemas de produção representativos das regiões ou países para os quais se buscam a aprovação. Deve-se obter autorização correspondente das autoridades sanitárias antes de iniciar o estudo. Recomenda-se consultar as autoridades regulatórias a respeito do desenho do estudo antes de iniciá-lo.

Se a vacina está indicada para animais em etapa reprodutiva, devem ser realizados estudos adequados de segurança em campo para demonstrar a segurança da LPR em condições de campo.

- **Animais e Lugares de ensaio**

Os bovinos devem estar na faixa de idade e categoria aos quais está destinada a vacina. O estado imunitário prévio pode ser considerado, embora seja uma condição excludente. Deve-se incluir um grupo controle.

Recomenda-se efetuar os estudos de segurança em duas ou mais regiões geográficas distintas. Deve-se utilizar a(s) dose(s) e via de vacinação recomendadas. Os estudos devem ser realizados com lote(s) representativo(s) da escala industrial da vacina.

7. RELATÓRIO FINAL

Os procedimentos devem ficar registrados em protocolos de trabalho seguindo as normas de boas práticas clínicas (BPC). As observações devem ser realizadas durante um período de tempo apropriado para a LPR e os eventos adversos devem ser documentados e incluídos no informe final. Dever-se-á tentar, na medida do possível, determinar a causa de evento adverso.

8. REFERÊNCIAS

- 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.