

 DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 1 de 28

GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN

 DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 2 de 28

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	4
2.	OBJETIVO.....	4
	GENERAL.....	4
	ESPECÍFICO.....	4
3.	ALCANCE.....	5
4.	DEFINICIONES.....	5
5.	SIGLAS.....	13
6.	BASE LEGAL.....	13
7.	REFERENCIA.....	14
8.	DESARROLLO.....	14
8.1.	PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS, FARMACÉUTICAS Y FORMULACIÓN.....	14
8.1.1.	DISEÑO DEL ANTÍGENO.....	14
8.1.2.	PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL ANTÍGENO.....	15
8.1.3.	CONTROL DE CALIDAD DE ANTÍGENOS.....	15
8.1.4.	PRODUCCIÓN DE INMUNOGLOBULINAS/ ANTISUEROS.....	15
8.1.5.	SELECCIÓN Y CUIDADOS VETERINARIOS DE LOS ANIMALES UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS.....	15
8.1.6.	RÉGIMEN DE INMUNIZACIÓN Y USO DE ADYUVANTES.....	16
8.1.7.	RECOLECCIÓN Y CONTROL DEL PLASMA ANIMAL POR FRACCIONAMIENTO.....	16
8.1.8.	PURIFICACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS Y FRAGMENTOS DE INMUNOGLOBULINAS EN LA PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS.....	17
8.1.9.	CONTROL DE RIESGOS INFECCIOSOS (INFORME DE VALIDACIONES, CONTRA QUE VIRUS).....	18
8.1.10.	CONTROL DE CALIDAD DE INMUNOGLOBULINAS.....	19
8.1.11.	ESTABILIDAD, ALMACENAMIENTO Y DISTRIBUCIÓN DE ANTÍGENOS.....	20
8.2.	ESTUDIOS PRECLÍNICOS.....	20
8.2.1.	PERFIL FARMACODINÁMICO.....	21
8.2.2.	PERFIL FARMACOCINÉTICO: ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN, METABOLISMO Y EXCRECIÓN.....	22
8.2.3.	PRUEBAS PRECLÍNICAS PARA MEDIR LA NEUTRALIZACIÓN DEL ANTIVENENO/ INMUNOGLOBULINAS.....	22
8.2.3.1.	Prueba de búsqueda de rango LD50.....	22
8.2.3.2.	El ensayo de dosis letal media (LD50).....	22
8.2.3.3.	Evaluación de eficacia.....	22
8.2.3.3.1.	Prueba de determinación de rango ED50.....	22
8.2.3.3.2.	El ensayo de dosis mediana efectiva (ED50).....	22

 DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 3 de 28

8.2.3.3.3.	Pruebas complementarias para medir la neutralización de patología inducidas por el antiveneno/ inmunoglobulinas	23
8.2.3.3.3.1.	Neutralización de actividad hemorrágica	23
8.2.3.3.3.2.	Neutralización de actividad necrotizante.....	23
8.2.3.3.3.3.	Neutralización de actividad procoagulante	23
8.2.3.3.3.4.	Neutralización in vivo de actividad defibrinogenizante.....	23
8.2.3.3.3.5.	Neutralización de actividad miotóxica	23
8.2.3.3.3.6.	Neutralización de actividad neurotóxica.....	23
8.3.	CON RESPECTO A LA ADMINISTRACIÓN EN HUMANOS.....	23
8.3.1.	ESTUDIOS CLÍNICOS.....	25
8.4.	EXPERIENCIA POSTERIOR A SU COMERCIALIZACIÓN	28
8.5.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
9.	CONTACTO	28

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 4 de 28

1. INTRODUCCIÓN

La evaluación regulatoria y el control de la calidad, seguridad y consistencia de producción de antivenenos implica la evaluación y aprobación de:

- la preparación del material plasmático de partida a partir de animales (incluida la preparación de lotes de veneno de serpiente representante de los animales venenosos de la región geográfica para los cuales se ha fabricado el antiveneno), la cría de animales, control y trazabilidad de los animales inmunizados y del proceso de inmunización;
- el proceso de fraccionamiento utilizado para producir los antivenenos;
- los métodos de prueba utilizados para controlar los lotes del producto, incluidos pruebas de potencia realistas y validadas basadas en la neutralización de probable envenenamiento máximo;
- pruebas de estabilidad y vida útil de los productos intermedios y finales;
- los datos preclínicos que respaldan la eficacia esperada del producto para el tratamiento de envenenamientos locales;
- la eficacia clínica de productos fabricados o importados localmente contra las especies de serpientes que se encuentran en el país.

2. OBJETIVO

GENERAL

Proveer al investigador y a toda aquella institución o centro de investigación que quiera realizar ensayos clínicos en El Salvador una guía sobre la evaluación de antivenenos o inmunoglobulinas como productos de investigación.

ESPECÍFICO

- Describir los documentos básicos que deben presentar sobre el producto de investigación.
- Orientar al investigador y patrocinador sobre el contenido de la documentación correspondiente a cada etapa del desarrollo del producto de investigación.

 DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 5 de 28

3. ALCANCE

Estudios clínicos de Fases I, II y III antivenenos e inmunoglobulinas obtenidas de la inmunización de animales; estudios de productos ya registrados en la DNM que evalúen una nueva indicación, nueva concentración si es mayor a la ya registrada, nueva posología o nueva forma farmacéutica con propósito de registro; todos los estudios de farmacocinética, biodisponibilidad y bioequivalencia, debiendo solicitar autorización de la Dirección Nacional de Medicamentos antes de su realización, dando cumplimiento a los requisitos establecidos en las guías de BPC. La Dirección Nacional de Medicamentos podrá reconocer de manera oficial decisiones, informes o información relevantes de ensayos clínicos de agencias reguladoras de medicamentos que han sido certificadas de nivel IV por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), así como por autoridades sanitarias de los Estados Unidos de Norteamérica, Canadá, Australia, Suiza, Japón y por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), y de otros países que dispongan de reglamentación específica para la regulación de Ensayos Clínicos. Asimismo, debido a las constantes actualizaciones de normativa técnica y de calidad en investigación clínica, la Dirección podrá reconocer y utilizar requisitos y actualizaciones de organismos certificadores e internacionalmente reconocidos y otros cuerpos regionales o internacionales para la evaluación del protocolo de investigación.

4. DEFINICIONES

- **Adyuvante completo de Freund (FCA):** un adyuvante que se puede utilizar en el proceso de inmunización de animales para mejorar la respuesta inmune a los venenos. Está compuesto por aceite mineral, un emulsionante y Mycobacterium tuberculosis inactivado.
- **Adyuvante incompleto de Freund (FIA):** un adyuvante que se puede utilizar en el proceso de inmunización de animales para mejorar la respuesta inmune a venenos. Está compuesto por aceite mineral y un emulsionante.
- **Aféresis:** procedimiento mediante el cual se extrae sangre del donante, se separan los componentes por medio físico y algunos de estos componentes son devueltos al donante.

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 6 de 28

- **Antiveneno - también llamado veneno anti-serpiente (ASV):** un purificado de la fracción de inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulina fraccionados del plasma de animales que han sido inmunizados contra uno más venenos de serpiente.
- **Antiveneno monoespecífico:** antivenenos que se obtienen del veneno de una sola especie, y su uso está limitado a esa especie o a unas pocas especies (típicamente del mismo género) cuyos venenos se muestran clínicamente efectivos para neutralización cruzada con el antiveneno. El término "monovalente" se utiliza a menudo y tiene el mismo significado.
- **Antiveneno poliespecífico:** antivenenos que se obtienen fraccionando el plasma de animales inmunizados con una mezcla de venenos de más de una especie de serpiente venenosa. El término "polivalente" se utiliza a menudo y tiene el mismo significado.
- **Área limpia:** un área con control ambiental definido de partículas y contaminación microbiana construida y utilizada de tal manera que se reduzca
- **Buenas prácticas clínicas (BPC):** un estándar internacional para una rigurosa conducta ética y de alta calidad en la investigación clínica, particularmente en relación con aspectos del diseño, realización, análisis, mantenimiento de registros, auditoría e informes de ensayos clínicos con sujetos humanos. Los estándares de GCP son establecidos por ICH bajo el Tema E 6 (R1).
- **Buenas prácticas de fabricación (BPF):** parte de la garantía de calidad que garantiza que los productos se produzcan y controlen de manera consistente con estándares de calidad apropiados para su uso previsto y según lo requiera la autorización de comercialización o especificación del producto. Se ocupa de ambos, producción y control de calidad.
- **Contaminación cruzada:** contaminación de un material de partida, producto intermedio o producto terminado con otro material de partida o producto durante la producción.
- **Contaminación:** la introducción no deseada de impurezas de naturaleza microbiológica o química, o de materias extrañas, dentro o sobre un material de partida o intermedio durante la producción, muestreo, envasado o reembalaje, almacenamiento o transporte

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 7 de 28

- **Control en proceso:** verificaciones realizadas durante la producción para monitorear y, si es necesario, ajustar el proceso para asegurar que el antiveneno inmunizado se ajusta a las especificaciones. El control del entorno o del equipo también puede ser considerado como parte del control en proceso.
- **Convención sobre el comercio internacional de especies silvestres de Fauna y Flora en peligro de extinción (CITES):** un acuerdo internacional entre gobiernos que tiene como objetivo garantizar que el comercio internacional de especímenes de animales salvajes y plantas no amenaza su supervivencia.
- **Cuarentena:** un período de aislamiento y observación forzosa típicamente para contener la propagación de una enfermedad infecciosa entre los animales. La misma terminología se aplica al período de aislamiento utilizado para realizar el control de calidad del plasma antes del fraccionamiento, o de inmunoglobulinas antiveneno antes del lanzamiento y distribución.
- **Desecación:** proceso de almacenamiento en el que los venenos se deshidratan bajo vacío en presencia de sales de calcio o ácido fosfórico.
- **Dosis desfibrinogénica mínima (MDD):** la cantidad mínima de veneno que produce sangre incoagulable en todos los ratones analizados en una hora de inyección intravenosa.
- **Dosis efectiva de desfibrinogénica mínima (MDD100):** el volumen mínimo de antiveneno o relación veneno / antiveneno, en el que las muestras de sangre de todos los ratones inyectados muestran formación de coágulos después de la administración de uno o más dosis de MDD de veneno.
- **Dosis efectiva mediana - o dosis efectiva 50% (DE50):** la cantidad de antiveneno que protege al 50% de los animales de prueba inyectados con una dosis letal media de veneno.
- **Dosis hemorrágica mínima (MHD):** la cantidad mínima de veneno (en µg) que cuando se inyecta por vía intradérmica en ratones causa una lesión hemorrágica dentro de un intervalo de tiempo predefinido (por ejemplo, 2-3 horas).

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 8 de 28

- **Dosis hemorrágica mínima-dosis efectiva mediana (MHD50):** el volumen mínimo de antiveneno (en μL) que reduce el diámetro de lesiones de hemorragia en un 50% en comparación con las inducidas en animales que reciben una solución control de veneno / solución salina.
- **Dosis letal mediana - o dosis letal 50% (DL50):** la cantidad de veneno/antígeno, inyectados por vía intravenosa o intraperitoneal, que conduce a la muerte del 50% de los animales de un grupo después de un período de tiempo establecido (generalmente 24 a 48 horas).
- **Dosis mínima de coagulante (MCD):** la cantidad mínima de veneno/ antígeno (en mg / L o $\mu\text{g} / \text{mL}$) que coagula una solución de fibrinógeno bovino ($2,0 \text{ g} / \text{L}$) en 60 segundos a 37°C (MCD-F) y / o una solución estándar de citrato de humanos plasma ($2,8 \text{ g} / \text{L}$ de fibrinógeno) en las mismas condiciones (MCD-P).
- **Dosis mínima de coagulante: dosis F-eficaz (MCD-F100) y dosis MCD-eficaz (MCD-P100):** el volumen mínimo de antiveneno o veneno / proporción de antiveneno, que previene completamente la coagulación inducida por cualquiera Dosis de veneno MCD-F o MCD-P.
- **Dosis miotóxica mínima (MMD):** la cantidad mínima de veneno que produce un aumento de cuatro veces en la actividad de la creatina quinasa (CK) sérica o plasmática por encima de la de los animales control.
- **Dosis miotóxica mínima-dosis media efectiva (MMD50):** la cantidad mínima de antiveneno (en μL o la relación veneno / antiveneno) que reduce la actividad de CK en suero o plasma en un 50% en comparación con las inducidas en animales que reciben una solución de veneno / solución salina.
- **Dosis necrosante mínima (MND):** la cantidad mínima de veneno (en μg) que cuando se inyecta por vía intradérmica en grupos de ratones ligeramente anestesiados da como resultado una lesión necrótica de 5 mm de diámetro en 72 horas.
- **Dosis necrotizante mínima-dosis efectiva media (MND50):** la cantidad mínima de antiveneno (en μL o la relación veneno / antiveneno) que reduce el diámetro de las

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 9 de 28

lesiones necróticas en un 50% en comparación con las inducidas en animales que reciben una solución control de veneno / solución salina.

- **Efectividad:** la efectividad de un antiveneno es una medida de su capacidad para producir un resultado clínicamente efectivo cuando se usa para tratar la mordedura de serpiente envenenamiento.
- **Eficacia:** la eficacia de un antiveneno es una medida de la potencia neutralizante in vivo o in vitro contra una actividad específica de un veneno o venenos.
- **Eliminación viral:** un proceso para mejorar la seguridad viral mediante la partición de virus de los componentes de interés.
- **Ensayo controlado aleatorio (ECA):** ensayo controlado aleatorio de un sustancia farmacéutica o dispositivo médico.
- **Envenenamiento:** inyección de veneno por un organismo (por ejemplo, serpiente venenosa) en otro organismo, dando lugar a manifestaciones patológicas (también llamado envenenamiento).
- **Extracción de veneno - o recolección de veneno u "ordeño":** El proceso de recolección de veneno de serpientes vivas.
- **F(ab') 2:** un fragmento de inmunoglobulina que comprende un par de fragmentos Fab conectado por una bisagra de proteína, y producido por digestión proteolítica de todas las inmunoglobulinas con pepsina.
- **Fab:** un fragmento de unión a antígeno (Fab) de una inmunoglobulina que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, cada una con un único dominio constante y un dominio de variable única. Los fragmentos Fab resultan de la digestión proteolítica de inmunoglobulinas por papaína (o pepsina después de la digestión con F (ab') 2).
- **Fabricación:** todas las operaciones de compra de materiales y productos, producción, control de calidad, liberación, almacenamiento y distribución de antiveneno para serpientes inmunoglobulinas y controles relacionados.
- **Formato de documento técnico común (CTD):** un formato específico para preparación del expediente del producto recomendada por la OMS y la Internacional Conferencia sobre

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 10 de 28

Armonización de Requisitos Técnicos para el Registro de Productos farmacéuticos para uso humano (ICH).

- **Fraccionamiento:** proceso a gran escala mediante el cual se separa el plasma animal para aislar la fracción de inmunoglobulina que se procesa posteriormente para fines terapéuticos o puede someterse a digestión con pepsina o papaína para generar fragmentos de inmunoglobulina. El término fraccionamiento se usa generalmente para describir una secuencia de procesos, que generalmente incluye la precipitación de proteínas plasmáticas y / o etapas de cromatografía, ultrafiltración y filtración.
- **Inactivación viral:** un proceso de mejora de la seguridad viral en el que los virus son "asesinados" intencionalmente.
- **Inmunoglobulina G (IgG):** una de las cinco clases de anticuerpos producidos por las células B. Se sintetiza en respuesta a invasiones de bacterias, hongos y virus. La IgG atraviesa la placenta y protege al feto. Es una proteína compleja compuesta por cuatro cadenas de péptidos: dos cadenas pesadas idénticas y dos idénticas cadenas ligeras dispuestas en forma de Y típica de monómeros de anticuerpos. Representando aproximadamente el 75% de los anticuerpos séricos en humanos, la IgG tiene una masa molecular de aproximadamente 150 kDa.
- **Inmunoglobulina M (IgM):** otro tipo de anticuerpo. Es una inmunoglobulina de alto peso molecular que se libera en la sangre de manera temprana en la respuesta inmune para ser reemplazado posteriormente por IgG y es altamente eficiente en complemento vinculante. Los anticuerpos IgM constituyen aproximadamente del 5 al 10% de todos los anticuerpos en el cuerpo; tienen una forma polimérica, principalmente como pentámeros. IgM tiene una masa molecular de aproximadamente 970 kDa.
- **Inmunoglobulina:** proteína formadora del sistema inmunológico producida por células B en plasma que puede reconocer antígenos específicos. Estos pueden ser generados por inmunizar a un animal (la mayoría de las veces un caballo) contra el veneno de una serpiente o una serpiente mezcla de veneno. La inmunoglobulina G (IgG) es la inmunoglobulina más abundante fracción.

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 11 de 28

- **Lote:** cantidad definida de materia prima o producto fabricado en un solo proceso o serie de procesos para que se espere que sea homogéneo.
- **Manual de calidad:** un documento controlado por escrito autorizado que define y describe el sistema de calidad, el alcance y las operaciones del sistema de calidad en todos los niveles de producción, responsabilidades de gestión, calidad procesos de sistemas clave y salvaguardias, el producto a granel o producto terminado. Proporcionan un historial de cada lote de producto y de todas las circunstancias pertinentes a la calidad del producto final.
- **Nanofiltro:** filtros, generalmente con tamaños efectivos de de poro de 50 nm, diseñado para eliminar virus de soluciones proteicas.
- **Neutralización cruzada:** la capacidad de un antiveneno contra un veneno, o un grupo de venenos, para reaccionar y neutralizar los efectos tóxicos del veneno de unas especies relacionadas no incluidas en la mezcla de veneno inmunizante. En el caso de inmunoglobulinas es la capacidad de neutralizar los efectos tóxicos de un antígeno de una especie no relacionada con la mezcla de las inmunoglobulinas.
- **Plasma:** la porción líquida que queda después de la separación de los elementos celulares de la sangre recogidos en un recipiente que contenga un anticoagulante, o separados por filtración continua o centrifugación de sangre anticoagulada en un procedimiento de aféresis.
- **Plasmaféresis:** procedimiento en el que se extrae sangre completa del donante, el plasma se separa de los elementos celulares por sedimentación, filtración o centrifugación, y al menos los glóbulos rojos se devuelven al donante.
- **Prión:** una partícula de proteína que se cree que es capaz de auto-replicarse y ser el agente de infección en una variedad de enfermedades del sistema nervioso, como scrapie, enfermedad de las vacas locas y otras encefalopatías espongiiformes transmisibles (TSE). Generalmente se cree que no contiene ácido nucleico.
- **Procedimiento operativo estándar (POE):** un procedimiento escrito autorizado para dar instrucciones para realizar operaciones no necesariamente específicas de un determinado

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 12 de 28

producto o material (por ejemplo, operación, mantenimiento y la introducción, generación y retención de contaminantes dentro del área. limpieza; validación; limpieza de locales y control ambiental; muestreo e inspección). Ciertos POE pueden usarse para complementar productos específicos, documentación maestra de producción y por lotes.

- **Proceso de inmunización:** proceso mediante el cual se inyecta a un animal veneno(s)/ antígeno para producir una respuesta con un alto título de anticuerpos de contra el letal y otros componentes deletéreos en el inmunógeno.
- **Producción:** todas las operaciones involucradas en la preparación de inmunoglobulinas de antiveneno de serpiente, de la preparación de venenos, inmunización de animales, recogida de sangre o plasma, procesamiento, envasado y etiquetado, para su finalización como producto terminado.
- **Producto a granel:** cualquier producto que haya completado todas las etapas de procesamiento, pero sin incluir llenado aséptico y envasado final.
- **Recolección de sangre:** procedimiento mediante el cual se realiza una sola donación de sangre. Recogido en una solución anticoagulante y / o estabilizante, en condiciones diseñadas para minimizar la contaminación microbiológica de la donación resultante.
- **Reducción viral:** un proceso de mejora de la seguridad viral en el que los virus se ha inactivado y / o eliminado.
- **Registros de lotes:** todos los documentos asociados con la fabricación de un lote separados por medios físicos en componentes y uno o más de ellos devueltos
- **Serpentario:** un lugar donde se guardan las serpientes, por ejemplo, para exhibirlas y / o para la recolección de venenos.
- **Sitio del archivo maestro:** un documento controlado por escrito autorizado que contiene detalles fácticos específicos de la producción de GMP y fabricación de control de calidad actividades que se llevan a cabo en cada sitio de operaciones vinculadas a productos que una empresa produce.

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 13 de 28

- **Suero:** una porción líquida que queda después de la coagulación de la sangre. El suero tiene una composición similar al plasma (incluidas las inmunoglobulinas) aparte de fibrinógeno y otros factores de coagulación que constituyen el coágulo de fibrina.
- **Toxina:** una sustancia tóxica, especialmente un péptido o proteína, que es producido por células u organismos vivos y es capaz de causar enfermedades cuando se ha introducido en los tejidos corporales. A menudo también es capaz de inducir neutralización de anticuerpos o antitoxinas.
- **Trazabilidad:** capacidad de rastrear cada serpiente individual, veneno, antígeno, animal inmunizado o unidad de sangre o plasma utilizada en la producción de una inmunoglobulina antiveneno con cada lote del producto final. El término se usa para describir el rastreo hacia adelante y hacia atrás.
- **Validación:** acción de probar, de acuerdo con los principios de BPM que cualquier procedimiento, proceso, equipo, material, actividad o sistema conduce a los resultados esperados.
- **Veneno:** la secreción tóxica de una glándula venenosa especializada que, en el caso de serpientes, se libera a través de los colmillos y provoca efectos deletéreos. Los venenos generalmente comprenden muchos componentes proteicos de diferente estructura y toxicidad.

5. SIGLAS

- **DNM:** Dirección Nacional de Medicamentos
- **EMA:** Agencia Europea de Medicamentos
- **ICH:** Conferencia Internacional de armonización
- **NOAEL:** Nivel sin efecto adverso observable
- **WHO:** Organización Mundial de la Salud

6. BASE LEGAL

- Art. 68, 69 Constitución de la República.
- Ley de Medicamentos Art. 2, 29, 66, 74 b). y 85

 DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 14 de 28

- Ley de Derechos y Deberes de los Pacientes Art. 5, 9, 16, 17 y 18.
- Código de Salud Art. 7 y 41
- Reglamento General de la Ley de Medicamentos Art. 34
- Reglamento Especial para el Reconocimiento de Registros Sanitarios Extranjeros

7. REFERENCIA

- MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTÁNDAR DEL COMITÉ NACIONAL DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN EN SALUD.
- MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE INVESTIGACIÓN EN SALUD DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD.
- Guía de Buenas Prácticas Clínicas (Documento de las Américas)
- Guía de Verificación de Buenas Prácticas Clínicas en Establecimientos de Salud.
- Lineamientos para las Buenas Prácticas Clínicas en Establecimientos en los que se Realizan Investigaciones o Ensayos Clínicos (Adaptación de la Guía Tripartita Armonizada de la Conferencia Internacional de Armonización ICHE 6R1)
- Chippaux, J. P. (2010). Guidelines for the production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins. *Biologie aujourd'hui*, 204(1), 87-91.
- WHO (2018). Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins.

8. DESARROLLO

8.1. PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS, FARMACÉUTICAS Y FORMULACIÓN

8.1.1. DISEÑO DEL ANTÍGENO

- a) Selección y preparación de la mezcla de antígenos.
- b) Manufactura de inmunoglobulinas monoespecíficas y poliespecíficas.
- c) Información epidemiológica y clínica que justifique el diseño del antígeno.
- d) En caso de incluir inmunoglobulinas poliespecíficas deberá describir las ventajas que este tiene sobre las inmunoglobulinas monoespecíficas.

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 15 de 28

e) Aclarar, en el caso de inmunoglobulinas poliespecíficas, si la mezcla de IgG viene de un animal inmunizado con una mezcla de antígenos o es la mezcla de varias inmunoglobulinas monoespecíficas.

f) Se deberá presentar evidencia sobre experimentación preclínica en la que se demuestre la capacidad de neutralización contra el antígeno circulante.

8.1.2. PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL ANTÍGENO

- a) Producción del antígeno para inmunización
- b) Personal responsable de la manipulación de los materiales de partida
- c) Almacenamiento del antígeno
- d) Aseguramiento de la trazabilidad del antígeno

8.1.3. CONTROL DE CALIDAD DE ANTÍGENOS

- a) Registros y trazabilidad de antígeno
- b) Estándares de referencia de los materiales de partida
- c) Caracterización de los lotes de antígenos. Características bioquímicas, actividad enzimática o toxicológica. Análisis de residuo de humedad en caso de liofilización, antígenos desecados o secados al vacío.

8.1.4. PRODUCCIÓN DE INMUNOGLOBULINAS/ ANTISUEROS

- a) Esquema de producción

8.1.5. SELECCIÓN Y CUIDADOS VETERINARIOS DE LOS ANIMALES UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS.

- a) Selección de los animales y período de cuarentena, período de aclimatación si fue necesario.
- b) Cuidado veterinario, monitoreo y vacunación. Examen físico y de sangre, incluyendo test serológicos para infecciones prevalente según el animal. Vacunación de acuerdo a la situación epidemiológica. Programa de desparasitación. Vacunación e información del animal.

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 16 de 28

- c) Estado de salud del animal después de la inclusión en el grupo de inmunización. Después del período de cuarentena, y si el animal se encuentra en buen estado de salud de acuerdo a la evaluación veterinaria, resultados serológicos negativos, el animal puede incluirse en el grupo de inmunización. Habrá que tener un registro del estado del animal durante la inmunización. La respuesta inmune del animal deberá ser monitoreada de acuerdo a un calendario y un orden con el objetivo de identificar un título de anticuerpos aceptable. La respuesta puede continuarse con ensayos de potencia de neutralización in vivo de letalidad o por in vitro test, como inmunoensayos.
- d) Deben tomarse en cuenta todas las medidas sanitarias del cuidado del animal de acuerdo a protocolos establecidos, particularmente con respecto a lesiones cutáneas y desarrollo de anemia.

8.1.6. RÉGIMEN DE INMUNIZACIÓN Y USO DE ADYUVANTES

- a) Animales utilizados en la producción de anticuerpos
- b) Antígenos utilizados en la inmunización
- c) Preparación de las dosis de antígenos
- d) Detoxificación del antígeno
- e) Adyuvantes inmunológicos
- f) Preparación de los adyuvantes inmunológicos
- g) Inmunización de animales
- h) Trazabilidad del proceso de inmunización

8.1.7. RECOLECCIÓN Y CONTROL DEL PLASMA ANIMAL POR FRACCIONAMIENTO

- a) Control sanitario el animal antes y durante las sesiones de sangrías
- b) Premisas para la recolección de sangre y plasma
- c) Etiquetado e identificación
- d) Pooling
- e) Control del plasma previo al fraccionamiento

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 17 de 28

8.1.8. PURIFICACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS Y FRAGMENTOS DE INMUNOGLOBULINAS EN LA PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS

- a) Buenas Prácticas de Manufactura
- b) Purificación de la sustancia activa.
- c) Propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de IgG, F(ab')₂ y Fab
- d) Las inmunoglobulinas deben fabricarse mediante fraccionamiento. Procedimientos bien establecidos, validados y demostrados para producir productos con seguridad y eficacia demostrada. Los procesos de fraccionamiento utilizados para la fabricación de inmunoglobulinas deben adherirse a los principios de BPM para medicamentos parenterales. Las inmunoglobulinas pueden estar compuestas de moléculas de IgG intactas, F (ab')₂ o fragmentos Fab. Las inmunoglobulinas IgG intactas son principalmente producidas por la precipitación de proteínas de plasma no IgG con ácido caprílico, dejando una preparación de IgG altamente purificada en el sobrenadante o filtrado.

Las inmunoglobulinas del fragmento F (ab')₂ se producen por digestión con pepsina de proteínas plasmáticas, a pH ácido, generalmente seguido de purificación de F (ab')₂ por salazón con soluciones de sulfato de amonio o por precipitación con ácido caprílico. Los fragmentos monovalentes fab son obtenidos por digestión de papaína de IgG a pH neutro.

Además de la ultrafiltración para eliminar los contaminantes de masa molecular baja, las preparaciones se formulan, se esterilizan por filtración y son dispensadas en los envases finales.

Las Formulaciones de inmunoglobulinas puede incluir agentes conservantes. Pasos adicionales, como cromatografía, se puede agregar a los protocolos de fraccionamiento para mejorar la pureza. Las inmunoglobulinas pueden presentarse como líquidos o

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 18 de 28

liofilizados. Se debe realizar la liofilización en condiciones que aseguren la no desnaturalización de proteínas y no formación de agregados de proteínas.

Las inmunoglobulinas IgG, F (ab')₂ y Fab exhiben diferentes perfiles farmacocinéticos: los fragmentos Fab tienen un mayor volumen de distribución y una vida media de eliminación mucho más corta. Sin embargo, en términos generales, IgG e inmunoglobulinas F (ab')₂ han mostrado un mejor perfil farmacocinético que los Fab.

8.1.9. CONTROL DE RIESGOS INFECCIOSOS (INFORME DE VALIDACIONES, CONTRA QUE VIRUS)

- Riesgo de contaminación viral del plasma de partida
- Validación viral del proceso de manufactura
- Validación viral de estudios de las inmunoglobulinas antiantígeno
- Implementación de la producción a escala de los pasos del proceso que contribuyen a la seguridad viral. Diseño del proceso, especificaciones de equipos, validación y calificación de los equipos, proceso de implementación.
- Encefalitis espongiiforme transmisible

La seguridad viral de las inmunoglobulinas resulta de una combinación de medidas:

- Garantizar un estado sanitario satisfactorio de los animales;
- Para reducir el riesgo de contaminación en el material crudo de partida;
- Asegurar la contribución del proceso de fabricación hacia la inactivación y / o eliminación de virus; y
- Asegurar el cumplimiento de las BPF a lo largo de toda la cadena de producción.
- Los procesos de fabricación deben incluir al menos dos pasos contribuyendo a una sólida reducción viral. Un paso de inactivación de virus que se puede monitorear fácilmente se prefiere generalmente a otros medios de reducción viral, como la eliminación inespecífica. Los fabricantes deben evaluar la capacidad de sus procesos de fabricación (en particular digestión de pepsina de pH bajo, tratamiento con ácido

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 19 de 28

caprílico, sulfato de amonio o precipitación térmica y posiblemente otros pasos) para desactivar o eliminar virus y validarlos, si es necesario. Estos estudios deben realizarse siguiendo directrices internacionales existentes y utilizando virus modelo que son representativos de los virus que podrían afectar a los animales utilizados para la producción de inmunoglobulinas.

- La eliminación de agentes antimicrobianos de la formulación final de las inmunoglobulinas debe sopesarse cuidadosamente con los posibles beneficios que estos agentes pueden tener sobre la seguridad viral.
- Si los procesos de reducción viral utilizados resultan insuficientes para garantizar un margen de seguridad, la introducción de métodos de reducción específicos debe considerarse. El impacto de tal cambio de procesos en la eficacia y seguridad del producto deben ser cuidadosamente analizados in vitro, así como en estudios preclínicos antes de realizar evaluaciones clínicas en humanos.
- Se debe prestar mucha atención a la implementación de escala de producción
- De todos los pasos que contribuyen a la seguridad viral para asegurar una reducción viral consistente y reproducible de lote a lote y ausencia de riesgos de contaminación cruzada y recontaminación en pasos posteriores que pondría en peligro la seguridad viral del producto.
- Cuando se deban utilizar materiales procedentes de ovejas para la producción de plasma, deben obtenerse de fuentes calificadas como poseedoras de un riesgo insignificante del agente infeccioso de la tembladera.

8.1.10. CONTROL DE CALIDAD DE INMUNOGLOBULINAS

- Pruebas estándares de calidad: Apariencia, solubilidad, volumen extraíble, test eficacia de anticuerpos neutralizantes, osmolalidad, identificación, concentración de proteínas, pureza e integridad de inmunoglobulinas, distribución por tamaño molecular, pirógenos, test de toxicidad anormal, esterilidad, concentración de cloruro de sodio y otros excipientes, determinación de pH, concentración de preservantes, agentes químicos utilizados en la fracción de plasma, humedad residual.

 GOBIERNO DE EL SALVADOR DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 20 de 28

- Preparaciones de referencia de las inmunoglobulinas

8.1.11. ESTABILIDAD, ALMACENAMIENTO Y DISTRIBUCIÓN DE ANTÍGENOS

- a) Estabilidad
- b) Almacenamiento
- c) Distribución

El control de calidad de cada lote de inmunoglobulinas preparado por el fabricante debe incluir la prueba de potencia para la neutralización de letalidad (ED50).

- En general, las preparaciones líquidas requieren una cadena de frío, mientras que las preparaciones liofilizadas no. Sin embargo, las condiciones de almacenamiento son específicas de la formulación y pueden variar. Los fabricantes deben, por lo tanto, determinar la estabilidad de cada inmunoglobulina mediante la realización de estudios de estabilidad en tiempo real.
- Los fabricantes deben estudiar la estabilidad de las inmunoglobulinas a temperatura ambiente en las áreas donde se utilizará el producto.
- Los fabricantes deberán proporcionar la información obtenida a partir de la evaluación preclínica de las inmunoglobulinas utilizadas en sus territorios contra los antígenos encontrados en la región o país donde se pretende utilizar el producto.

8.2. ESTUDIOS PRECLÍNICOS

Es un requisito normativo y ético fundamental que todos los nuevos agentes terapéuticos para uso humano se prueben para determinar su seguridad y eficacia, inicialmente en un laboratorio de LD50 in vitro, y luego en pruebas preclínicas de DE50 in vivo y, si los resultados de estos resultan satisfactorios, mediante pruebas clínicas. Por lo tanto, las pruebas de eficacia preclínica deben realizarse con nuevas inmunoglobulinas/antisueros y lotes recién fabricados de inmunoglobulinas/antisueros existentes.

 GOBIERNO DE EL SALVADOR DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 21 de 28

Es imperativo que los laboratorios que utilizan animales en la investigación o en la evaluación preclínica de antivenenos/ inmunoglobulinas se adhieran a los más altos estándares éticos. Los “Principios rectores internacionales para la investigación biomédica con animales (2012)” desarrollados por el Consejo Internacional para la Ciencia Animal de Laboratorio (ICLAS) y el Consejo para la Organización Internacional de Ciencias Médicas (CIOMS) proporcionan un punto de referencia internacional para el uso de animales en la investigación.

Para evitar el uso innecesario de animales, de la literatura existente se puede obtener datos para ayudar a refinar el diseño experimental y, por lo tanto, reducir el número de animales de experimentación necesarios.

Los fabricantes también pueden examinar la capacidad de unión antígeno/veneno inmunológico mediante la realización de ensayos inmunológicos (por ejemplo: ELISA) para identificar y excluir de la experimentación, antivenenos/ inmunoglobulinas que no poseen el título. Sin embargo, es muy importante señalar que (i) aunque un título alto de unión al veneno/ antígeno en un resultado de ELISA para un antiveneno/ inmunoglobulinas no puede usarse para inferir la eficacia neutralizante del veneno/ antígeno, (ii) una falla de un antiveneno/ inmunoglobulina para unirse al veneno/ antígeno en un ELISA. El resultado sugiere con mucha fuerza que el antiveneno/ inmunoglobulina se considere ineficaz para neutralizar los efectos de ese veneno/ antígeno y que se retire de las pruebas de ED50. Este paso puede limitar aún más la experimentación con animales no productivos. No existe una métrica de ELISA única que permita tomar decisiones Stop / Go para todas las combinaciones posibles de veneno/ antígeno y antiveneno/ inmunoglobulina. Por tanto, estas serán decisiones internas.

8.2.1.PERFIL FARMACODINÁMICO

8.2.1.1. Farmacología primaria: *in vitro* e *in vivo*

8.2.1.2. Farmacología de seguridad y eficacia

 DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 22 de 28

8.2.2. PERFIL FARMACOCINÉTICO: ABSORCIÓN, DISTRIBUCIÓN, METABOLISMO Y EXCRECIÓN.

- 8.2.2.1. Toxicidad
- 8.2.2.2. Toxicidad a dosis única (aguda)
- 8.2.2.3. Toxicidad a dosis repetida (crónica)
- 8.2.2.4. Toxicidad sobre reproducción
- 8.2.2.5. Genotoxicidad
- 8.2.2.6. Carcinogenicidad
- 8.2.2.7. Tolerancia local

8.2.3. PRUEBAS PRECLÍNICAS PARA MEDIR LA NEUTRALIZACIÓN DEL ANTIVENENO/ INMUNOGLOBULINAS

Se recomienda el uso constante de estándares de veneno/ inmunoglobulinas y cepas de ratones consanguíneos, de un rango de peso definido (por ejemplo, 18-20 g), para todos los ensayos. Algunos productores utilizan otros animales de prueba, como conejillos de indias. Si bien los pesos variarán claramente entre las especies animales, los siguientes principios, especificado para ratones, seguirá siendo aplicable a estos animales de prueba alternativos. Hay que tener en cuenta que existen variaciones en la susceptibilidad de varias cepas de ratones al efecto letal de los venenos/ inmunoglobulinas.

- 8.2.3.1. Prueba de búsqueda de rango LD50
 - 8.2.3.2. El ensayo de dosis letal media (LD50)
 - 8.2.3.3. Evaluación de eficacia
 - 8.2.3.3.1. Prueba de determinación de rango ED50
 - 8.2.3.3.2. El ensayo de dosis mediana efectiva (ED50)
- El resultado de ED50 se puede expresar de varias formas:

 DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 23 de 28

- mg de veneno/ antígeno neutralizados por ml de antiveneno/
inmunoglobulinas;
- µl de antiveneno/ inmunoglobulinas necesario para neutralizar la "dosis de
exposición" del veneno/ antígeno utilizado; y
- µl de antiveneno/ inmunoglobulinas necesario para neutralizar un mg de
veneno/ antígeno;

La práctica de definir la DE50 por el número de LD50 murinas de veneno/ antígeno neutralizado por ml de antiveneno/ inmunoglobulinas es inexacta y tiene poca utilidad clínica. Dado que los valores de LD50 para el mismo veneno/ antígeno puede variar de un fabricante a otro, esta representación de ED50 debe evitarse.

8.2.3.3.3. Pruebas complementarias para medir la neutralización de patología inducidas por el antiveneno/ inmunoglobulinas

8.2.3.3.3.1. Neutralización de actividad hemorrágica

8.2.3.3.3.2. Neutralización de actividad necrotizante

8.2.3.3.3.3. Neutralización de actividad procoagulante

8.2.3.3.3.4. Neutralización in vivo de actividad defibrinogenizante

8.2.3.3.3.5. Neutralización de actividad mitotóxica

8.2.3.3.3.6. Neutralización de actividad neurotóxica

8.3. CON RESPECTO A LA ADMINISTRACIÓN EN HUMANOS

Los estudios de búsqueda de dosis buscan establecer la dosis inicial óptima de un antiveneno/ antígena necesaria para controlar el envenenamiento/ infección en pacientes con diferentes

 DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 24 de 28

grados de envenenamiento/ enfermedad. La dosis terapéutica de un antiveneno/ antígeno administrado por vía intravenosa depende de:

- la cantidad de veneno/ antígeno inyectado (evaluado por resultados clínicos y de laboratorio);
- la potencia neutralizante del antiveneno/ inmunoglobulina (administrada por pruebas preclínicas); y
- la dosis del antiveneno/ inmunoglobulina administrado al paciente.

La dosis está calculada para neutralizar una cierta cantidad de veneno/ antígeno y no varía entre adultos y niños. Se pueden usar pruebas preclínicas para estimar las dosis iniciales y estos regímenes de dosificación pueden evaluarse de diversas formas utilizando la eficacia estándar y puntos finales de seguridad. Los regímenes de dosis se pueden evaluar aproximadamente mediante el uso de estudios observacionales.

En estos, la proporción de pacientes con buenos resultados clínicos (por ejemplo, restauración de la coagulabilidad de la sangre o falta de desarrollo de necrosis local de la herida) se puede observar con diferentes dosis crecientes o decrecientes de antiveneno/ inmunoglobulina.

Como parte del diseño del estudio, es importante determinar el número mínimo de pacientes necesarios para establecer resultados significativos mediante el uso de cálculos de tamaño de muestra. En ocasiones, los resultados pueden compararse con los de estudios anteriores (controles históricos) para determinar cómo se compara la eficacia o seguridad de un antiveneno/ inmunoglobulina recién introducido con los antivenenos/ inmunoglobulina usados anteriormente. Sin embargo, estas comparaciones están sujetas a muchos tipos de variables de confusión y son inherentemente poco fiables. Posteriormente, la dosis mínima que parece ser eficaz puede evaluarse en ensayos de fase II más grandes o compararse con otro antiveneno/ inmunoglobulina o una dosis diferente en ensayos controlados aleatorios de fase III.

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 25 de 28

- 1.1 Vía de administración prevista en humanos avalada por el desarrollo preclínico.
- 1.2 Extrapolación a humanos: NOAEL.
- 1.3 Primera dosis en humanos
- 1.4 Tiempo de exposición en animales en relación con el ensayo clínico
- 1.5 Población expuesta: criterios de inclusión/exclusión a considerar en el ensayo clínico desde el punto de vista de la seguridad preclínica
- 1.6 Conformidad de Buenas Prácticas de Laboratorio

8.3.1. ESTUDIOS CLÍNICOS

La seguridad y tolerancia del antiveneno/ inmunoglobulinas dependen de factores de fabricación (composición de inmunoglobulinas, purificación de fragmentos de inmunoglobulina, concentración de proteínas y presencia de conservantes). En consecuencia, la incidencia y gravedad de las reacciones adversas por dosis similares es poco probable que varíe dentro de un lote determinado de antiveneno/ inmunoglobulinas en diferentes ubicaciones geográficas. Por el contrario, la eficacia depende de ambos factores de fabricación (elección de venenos/ antígeno, título inmunológico) y también factores circunstanciales (calidad y cantidad de veneno/ antígeno inoculado, estado físico del paciente, retraso del tratamiento, etc.). Sin embargo, después de la evaluación preclínica inicial, tanto los estudios de efectividad como los de búsqueda de dosis pueden necesitar repetirse para una nueva ubicación geográfica, dependiendo de la similitud de la especie de serpiente/ antígeno en el nuevo lugar con aquellos en los que se probó inicialmente el antiveneno/ inmunoglobulina. Si las especies son similares, pruebas preclínicas indican una buena neutralización y si existe evidencia de efectividad clínica en otros lugares, estudios de vigilancia posteriores a la comercialización pueden ser adecuados.

Los ensayos controlados aleatorizados de fase III definitivos pueden requerir un gran número de pacientes porque existe una considerable variabilidad en la manifestación clínica del envenenamiento/ enfermedad (o la gran variabilidad en la cantidad y calidad del veneno/ antígeno inyectado en diferentes pacientes). El nuevo antiveneno/inmunoglobulinas se

 GOBIERNO DE EL SALVADOR	DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código
		REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
		EVALUACIONES	Versión No. 02
		GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 26 de 28

compara con el tratamiento antiveneno/ inmunoglobulinas estándar existente o, si no existe, se pueden comparar dos dosis diferentes del antídoto de prueba. Los controles con placebo rara vez se justifican a menos que exista una verdadera incertidumbre sobre el riesgo y los beneficios del tratamiento con antídoto. En esta situación, como protección contra la morbilidad innecesaria en cualquier grupo de tratamiento, un plan secuencial restringido podría incorporarse lo que permite la evaluación de los resultados a medida que avanza el ensayo, como en los ensayos iniciales de antitoxina tetánica terapéutica.

Para evitar sesgos, los pacientes deben ser asignados al azar a los grupos y el estudio debe ser cegado, como mínimo al personal de investigación que está evaluando la respuesta clínica e idealmente tanto a los investigadores como a los participantes. Debe haber un cálculo del número de pacientes requeridos en cada brazo del ensayo para dar al estudio suficiente poder estadístico. Los cálculos se basan en la diferencia esperada en el resultado entre los grupos de tratamiento (si diseñado para demostrar la superioridad de un tratamiento sobre otro) o límites predefinidos del rendimiento aceptable en comparación con un producto existente (si está diseñado para demostrar que el nuevo antiveneno/ inmunoglobulina no es peor que los productos existentes (no inferioridad)).

8.3.1.1. Criterios de eficacia

Los criterios de evaluación (puntos finales) utilizados para los estudios de antiveneno/ inmunoglobulina deben estar predefinidos a priori y ser objetivos. Pueden ser clínicos o evaluados mediante investigaciones de laboratorio. Los puntos finales comunes incluyen mortalidad, desarrollo de efectos tisulares locales del envenenamiento/ infección como necrosis, tiempo necesario para restaurar la coagulabilidad de la sangre (evaluado mediante la prueba de coagulación de la sangre completa de 20 minutos), otros parámetros de laboratorio como el tiempo de protrombina, la detención del sangrado o el objetivo mejoría clínica de la neurotoxicidad. Los marcadores sustitutos, como el recuento de plaquetas, son menos adecuados ya que pueden verse afectados por la activación del complemento resultante del tratamiento antiveneno/ inmunoglobulina en sí.

 DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 27 de 28

Los pacientes deben ser observados cuidadosamente durante el tiempo suficiente para revelar evidencia de recurrencia de envenenamiento/ infección (visto particularmente con antivenenos/ inmunoglobulinas Fab de vida media corta). Sin embargo, debido a la gran variabilidad del modo de acción de los venenos/ antígenos, las respuestas del paciente y la capacidad de diagnóstico de los centros de salud, particularmente en países en desarrollo, es necesario promover las investigaciones clínicas para identificar los criterios clínicos y de laboratorio adecuados.

8.3.1.2. Criterios de seguridad

Debido a que los antivenenos/ inmunoglobulinas consisten en proteínas / fragmentos extraños que son susceptibles de agregación, los efectos adversos son un riesgo inevitable en la terapia. Los pasos de fabricación adecuados pueden reducir la tasa de reacciones adversas. Las velocidades de reacción están correlacionadas con la pureza del antiveneno/ inmunoglobulinas y la cantidad de proteína infundida. La observación clínica continua junto a la cama es necesario durante varias horas después del tratamiento para detectar reacciones agudas; reacciones adversas tardías que pueden ocurrir varias semanas después. Las tasas de reacción precisas solo se pueden evaluar de forma prospectiva. Las tasas de reacción pueden diferir considerablemente entre diferentes antivenenos/ inmunoglobulinas, pero en la mayoría de los casos solo una pequeña proporción son potencialmente mortales. Aunque no existe consenso sobre la clasificación o calificación de las reacciones adversas tempranas (EAR), los estudios deben tener como objetivo detectar tanto las reacciones adversas tempranas (anafilaxia y pirogenicidad) que ocurren en el momento de, o dentro de las 24 horas posteriores a la administración del antiveneno/ inmunoglobulina (como urticaria, picor, fiebre, hipotensión o broncoespasmo) y reacciones tardías como enfermedad del suero que ocurren entre los 5 y 24 días de la administración del antídoto (por ejemplo, fiebre, urticaria, artralgia, linfadenopatía, proteinuria o neuropatía).

1.7 Análisis de los estudios de farmacología clínica en seguridad y eficacia

1.8 Farmacocinética

1.9 Farmacodinamia

 DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS	ASEGURAMIENTO SANITARIO	Código C02-RS-03-DRS_CIC.GUI09
	REGISTROS SANITARIOS Y TRÁMITES ASOCIADOS	
	EVALUACIONES	Versión No. 02
	GUÍA PARA ELABORAR EL MANUAL DEL INVESTIGADOR PARA ANTIVENENOS/ INMUNOGLOBULINAS DE ANIMALES INMUNIZADOS EN INVESTIGACIÓN	Página 28 de 28

- 1.10 En poblaciones especiales (pediátrica y adolescentes, geriátrica, insuficiencia renal, insuficiencia hepática)
- 1.11 Interacciones farmacológicas
- 1.12 Dosis, administración, indicaciones, usos, contraindicaciones y precauciones
- 1.13 Resumen de eventos adversos (esperados, serios, más frecuentes, etc.)

8.4. EXPERIENCIA POSTERIOR A SU COMERCIALIZACIÓN

8.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

9. CONTACTO

- Correo: ensayos.clinicos@medicamentos.gob.sv
- Teléfono: 2522-5000