

CERINȚE PRIVIND EFECTUAREA STUDIILOR CLINICE PENTRU PRODUSELE FARMACEUTICE VETERINARE DESTINATE UTILIZĂRII LA PEȘTI

REQUIREMENTS ON CLINICAL TRIALS FOR VETERINARY PHARMACEUTICAL PRODUCTS FOR FISH

Simona Sturzu, Alina Draghici, Daniela Tirsinoaga, Mariana Dumitrache, Cristina Popica, Andreea Maftei

Institute for Control of Veterinary Biological Products and Medicines

Cuvinte cheie: studii clinice, eficacitate, produs farmaceutic, peste

Keyword: clinical studies, efficacy, pharmaceutical product, fish

Rezumat

Un produs farmaceutic veterinar destinat utilizării la pești trebuie să îndeplinească cerințele de bază pentru aprobarea acestuia în vederea comercializării, în conformitate cu Ordinul președintelui Agenției Naționale Sanitar Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor nr.187/2007, cu modificările și completările ulterioare. În conformitate cu legislația în vigoare, documentația tehnică a unui produs trebuie să conțină informații referitoare la calitatea, siguranța animalului, consumatorilor, utilizatorilor și a mediului și demonstrarea eficacității și a toleranței la speciile țintă. Lucrarea de față furnizează informații importante privind cerințele pentru demonstrarea eficacității produselor farmaceutice destinate utilizării la pești. Scopul principal al datelor de eficacitate este de a demonstra valoarea terapeutică a unui produs farmaceutic, de a stabili doza optimă și perioada de administrare a produsului. Pentru testele clinice referitoare la eficacitate este nevoie, de asemenea, să se ia în considerare, unele aspecte cum ar fi clima, starea de sănătate a animalelor, temperatura apei și salinitatea acesteia, deoarece acestea pot influența rezultatul și, prin urmare, veridicitatea studiilor.

Abstract

Veterinary pharmaceutical products intended for use in fish should comply with all usual requirements regarding approval for marketing, according to the Order of the President of the National Sanitary Veterinary Agency and for Food Safety No.187/2007, with subsequent amendments and additions. According to the legislation the technical file should contain documentation of quality, safety of animals, consumer, user and environment and demonstration of efficacy and tolerance in the target species. This paper provides the important information on requirements for demonstration on efficacy of pharmaceutical products intended for use in fish. The principal aim of the efficacy data is to prove the therapeutic value of pharmaceutical products and to establish an optimal dose and period of dose administration. In efficacy clinical trial is needed, also, to take into account, the various conditions such as climatic aspects, disease situation, water temperature and salinity, because these may influence the outcome and veracity of the studies.

Generalitati

Principalele specii de bacterii care determină boli la pești sunt speciile de bacterii Gram negative, inclusiv *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacterium columnare*, *Vibrio spp.* și *Pseudomonas spp.*

O prevalență mult mai scăzută au bacteriile Gram pozitive, în special cele incluse în genul *Streptococcus*.

Produsele medicinale veterinare ajută la îmbunătățirea stării de sănătate a peștilor, jucând un important rol în salvarea vieții

animalelor acvatice, însă acestea trebuie să fie utilizate în mod corect pentru a fi sigure și eficiente (Figura 1).

Un produs medicinal veterinar parcurge mai multe etape de cercetare până la plasarea pe piață, etape care se finalizează cu întocmirea unei documentații tehnice consistente, care are la bază studii detaliate pentru demonstrarea calității, siguranței și eficacității produsului

Toate produsele farmaceutice utilizate pentru a controla morbiditatea cauzată de boli bacteriene sau parazitare, precum și cele

utilizate pentru sedarea, anestezia sau inducerea reproducerii speciilor acvatice, trebuie să aibă o autorizație de comercializare validă.

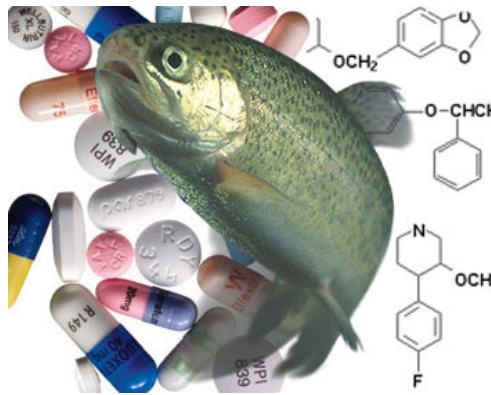


Figura 1: Studii pentru eficacitatea terapeutică
(Photo: FIS stock)

Autorizația de comercializare pentru produsele farmaceutice destinate peștilor are la baza întocmirea documentației tehnice a produsului în conformitate cu prevederile legale în vigoare și evaluarea informațiilor cuprinse în aceasta, referitoare la:

- siguranța peștilor țintă,
- siguranța personalului care manipulează produsul farmaceutic sau
- care consumă peștele tratat și
- siguranța mediului, atunci când sunt aplicate dozele terapeutice.

Toate produsele farmaceutice trebuie să fie fabricate în conformitate cu cerințele bune practici de fabricație și trebuie ambalate și etichetate într-o manieră care să asigure conformitatea utilizării.

Studiile pentru demonstrarea eficacității

Studiile pentru demonstrarea eficacității produsului medicinal veterinar la pești, ca și în cazul celorlalte specii de animale, se bazează pe efectuarea de studii clinice, iar documentația tehnică referitoare la eficacitate trebuie să includă date privind valoarea terapeutică, să definească doza optimă și regimul de dozaj al produsului.

Studiile clinice efectuate pe pești

Necesită utilizarea subiecților sănătoși pentru a obține date relevante pentru studiu (Jenkins 2011), cu excepția cazului în care o boală infecțioasă face parte din protocolul experimental.

Exemplarele utilizate în studiile clinice trebuie să fie libere de orice microorganism patogen care ar putea induce o stare de boală, deoarece, o afecțiune cu evoluție subclinică (cronică sau non-letală), poate afecta rezultatele testării (Lawrence et al. 2012).

Sursa de pește utilizată în studiile clinice poate influența starea de sănătate a grupului supus testării. Peștii crescuți în captivitate au un status al sănătății supravegheat permanent, pe când peștii capturați din mediul lor natural de viață, trebuie supuși aclimatizării și carantinei.

Cu toate acestea, peștii supuși studiilor clinice, în care condițiile de cultură sunt oarecum diferite de mediul lor natural, sunt susceptibili la stress (Barton și Iwama 1991), iar răspunsurile la stress pot include modificări ale comportamentului (Martins et al. 2012), dezvoltare deficitară, modificări în starea osmotică, suprimarea sistemului imunitar și modificarea capacității de reproducere (Iwama et al 2006).

De aceea, înainte de începerea propriu-zisă a studiului clinic, este necesară o perioadă de aclimatizare a peștilor.

Este important ca peștii care au fost identificați cu diferite semne de boală sau cu boli patologice confirmate, să fie eliminați din studiile clinice. În această perioadă de aclimatizare se utilizează o serie de metode pentru reducerea contaminării cu protozoare și ectoparaziți din ordinul *Monogenea*.

Nu se recomandă, însă, administrarea în perioada de aclimatizare a antibioticelor pentru bacteriile patogene, deoarece această practică poate duce la dezvoltarea de bacterii rezistente la antibiotice.

În plus, peștii supuși studiilor clinice trebuie să fie menținuți, manipulați și testați în condiții care nu vor genera stress și implicit, scăderea imunității.

În toate studiile trebuie utilizată aceeași cale de administrare a produsului farmaceutic, iar studiile trebuie efectuate pentru fiecare indicație propusă și pentru toate speciile țintă pentru care eficacitatea este revendicată.

De asemenea, studiile clinice la pești trebuie efectuate la temperatura apei la care se recomandă utilizarea produsului, ținând cont de condițiile climatice ale regiunii.

Este necesar ca studiile clinice să includă grupuri de pești martori: pozitiv și negativ.

Grupurile de martori pozitivi sunt grupuri de peste tratate cu un produs de referință autorizat pentru aceleași indicații și utilizat conform instrucțiunilor aprobate, în timp ce grupurile de martori negativi sunt grupuri care primesc placebo sau grupuri care nu primesc niciun fel de tratament.

Este foarte importantă observarea atentă și înregistrarea oricăror reacții adverse constatate în urma administrării produsului farmaceutic.

Stabilirea eficacității produsului are la bază rezultatele obținute din două studii parțiale: studiile efectuate în laborator și studiile efectuate în teren.

Studiile efectuate în laborator presupun efectuarea testelor pe speciile țintă principale, în condiții de mediu controlate și standardizate (Figurile 2 și 3).

Peștii care vor fi incluși în studiu trebuie să aibă vârsta și mărimea similară, să fie susceptibili la bolile pentru care e revendicată acțiunea produsului, să aibă un status de sănătate corespunzător și origine cunoscută.

Peștii incluși în studiu nu trebuie să fi fost anterior expuși microorganismului cu care se realizează infecția de control.

Microorganismul cu care se realizează infecția de control trebuie să fie o tulpină relevantă pentru situația de boală curentă și să poată fi izolat și caracterizat prin metode corespunzătoare.

Rezultatele obținute la infecția de control trebuie să fie bazate pe numărarea numărului de paraziti, analize microbiologice sau alte investigații pertinente. Tot aici trebuie amintite studiile efectuate pe embrionii și peștii Zebră (*Danio rerio*) care sunt tot mai utilizate în

testarea medicamentelor și gradului de poluare cu substanțe a mediului acvatic.

În cazul studiilor pt. determinarea dozei terapeutice se urmărește stabilirea dozei optime, intervalul de dozare și perioada de tratament pentru indicațiile revendicate. Acestea se realizează cu sau fără infecție de control. De asemenea, trebuie stabilită relația dintre doza-răspuns pentru obținerea efectului terapeutic scontat, inclusiv pentru reacții adverse, dacă este cazul.

Studiile de laborator pot fi efectuate în apa de mare sau în apa proaspătă, în cazul în care farmacocinetica substanțelor active nu este afectată de salinitatea ridicată a apei.



Figura 2: Sistem de rezervoare de peste:

<https://www.linkedin.com/pulse/specific-types-fish-farms-amisy-fish>

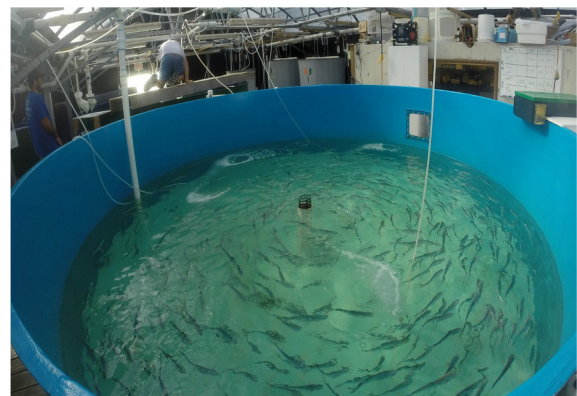


Figura 3: Rezervoare pentru creșterea peștilor:

<http://seagrant.noaa.gov/News/FeatureStories/TabId/268/ArticleID/251/Scientists-seek-answers-to-open-ocean-aquaculture-unknowns.aspx>

Pentru produsele antimicrobiene este necesar ca datele referitoare la CMI precum și datele parametrilor farmacocinetici să fie utilizate pentru estimarea nivelului corespunzător de expunere.

Aceste date sunt utilizate pentru determinarea corespunzătoare a dozei cu ajutorul markerilor stabiliți pentru studiile de farmacocinetica (PK marker) și farmacodinamie (PD marker).

Studiile efectuate in teren

Trebuie realizate conform regulilor de buna practica clinică și au ca scop demonstrarea faptului ca produsul farmaceutic veterinar este eficace și sigur în condiții diversificate de acvacultura (Figurile 4 și 5).

Locurile stabilite pentru efectuarea studiilor clinice trebuie să aibă la baza distribuția geografică, situația bolilor și practicile de management. Fiecare loc trebuie să dispună de mai multe rezervoare pentru pești de mărimi, vârste și condiții fiziologice diferite, în corelație cu utilizările propuse ale produsului farmaceutic.



Figura 4: Ferma de peste:

<http://modernfarmer.com/2013/11/u-s-farming-fish-ever-nowhere-near-china/>

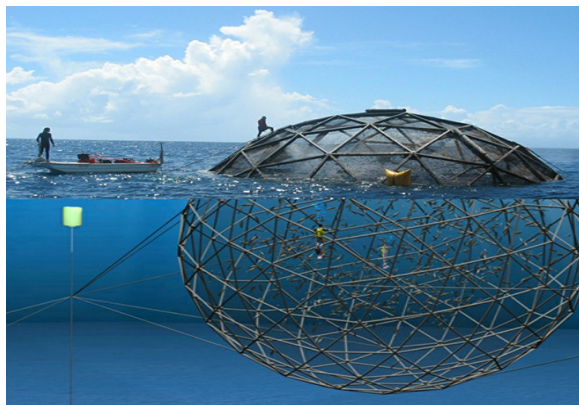


Figura 5: Sistem pentru acvacultura marina:

<http://spacecollective.org/matthewspencer>

O importanță deosebită în stabilirea eficacității produsului o au înregistrările legate de:

- sursa de peste,
- istoricul bolilor,
- medicația anterioară,
- utilizarea altor produse farmaceutice sau
- a vaccinurilor,
- apariția bolii,
- morbiditate,
- hrănirea,
- igiena,
- temperatura apei, etc.

Totii peștii dintr-un rezervor sunt considerați ca fiind un grup.

Pentru fiecare studiu din teren sunt necesare minimum 2 grupuri, din care unul trebuie să fie grupul de control.

Pentru testele din teren, realizate în ferme comerciale de pești, este de dorit ca eficacitatea produsului să fie analizată atunci când bolile apar spontan. În aceste cazuri, testările necesită să fie conduse pentru o perioadă de un an și în condițiile apariției în mod natural a bolii pentru care utilizarea produsului este revendicată (Figura 6).

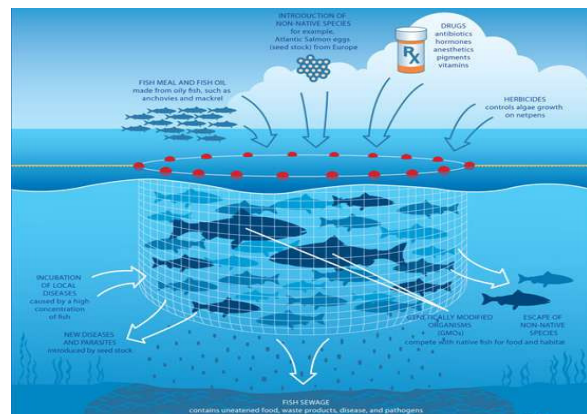


Figura 6: Ferma de peste în sistem deschis:

<http://phys.org/news/2016-04-fish-farming-sustainable.html>

Prezența bolii investigate trebuie confirmată la toate grupurile incluse în testare, pe baza unui diagnostic corect, însoțit de examinările postmortem pentru un număr suficient de pești (minim 6 pești / grup).

Este necesar să se stabilească condițiile precise de apariție a bolii și să se identifice agentul sau agenții patogeni prin izolarea și caracterizarea prin metode microbiologice corespunzătoare.

Concluzii

Toate datele referitoare la condițiile efectuării testelor prezentate anterior, trebuie descrise detaliat, astfel încât să fie posibilă reproducerea lor, ținând cont de precizările incluse în Ghidul pentru raportarea rezultatelor experimentelor la pești și Ghidul pentru demonstrarea siguranței și eficacității produselor medicinale veterinare destinate utilizării la speciile țintă de peste (EMA/CVMP/EWP/ 2008).

De asemenea, ghidurile menționate anterior trebuie să completeze cerințele de bază din Directiva CE 82/2001 cu modificările și completările ulterioare, precum și cu alte ghiduri europene relevante și ghiduri VICH (*Veterinary International Conference on Harmonization*).

În România sunt autorizate pentru comercializare un număr de 9 produse farmaceutice destinate utilizării la peste (3 produse provenite din UE și 6 produse românești), iar indicațiile de utilizare principale se referă la tratamentul furunculozei, vibriozei, pasteurelozei, streptocociei, yersinozei, eritrodermitei, precum și la tratamentul infecțiilor primare sau secundare produse de germeni sensibili la acțiunea substanțelor active (oxitetraciclina, florfenicol, flumequine, enrofloxacină).

Bibliografie

1. **Ordinul președintelui ANSVSA nr.187/2007**, cu modificările și completările ulterioare
2. **Directive 2001/82/EC** of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to veterinary medicinal products amended by Directive 2004/28/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/82/EC on the Community code relating to veterinary medicinal products.
3. **CVMP Guideline** on demonstration of target animal safety and efficacy of veterinary medicinal products intended for use in farmed finfish (EMA/CVMP/EWP/459868/2008)
4. **CVMP Guidelines** on efficacy and target animal safety data requirements for veterinary medicinal products intended for minor uses or minor species (EMA/CVMP/EWP/117899/2004)
5. **CVMP guideline** on demonstration of efficacy for veterinary medicinal products containing antimicrobial substances (EMA/CVMP/627/01)
6. **VICH Topic GL 7:** Efficacy requirements for anthelmintics: overall guideline (CVMP/VICH/832/99)
7. **VICH Topic GL 9:** Good clinical practices (CVMP/VICH/595/98-FINAL)
8. **VICH Topic GL 43:** Target animal safety for pharmaceuticals (EMA/CVMP/VICH/393388/2006)
9. **Barton BA, Iwama GK.** (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Ann Rev Fish Dis* 1: 3–26.
10. **Iwama GK, Afonso LOB, Vijayan MM.** (2006). Chapter 9: Stress in fishes. pp 319–342 in D.H. Evans and J.B. Claiborne, Eds. *The physiology of fishes*, 3rd Ed. CRC Press, Boca Raton, Florida.
11. **Jenkins JA** (2011). Infectious disease and quality assurance considerations for the transfer of cryopreserved fish gametes, pp: 939–959. In TR Tiersch and CC Green, Eds. *Cryopreservation in aquatic species*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.
12. **Ennis LC, Harper DG, Kent C, Murray ML, Sanders K.** (2012). The challenges of implementing pathogen control strategies for fishes used in biomedical research. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. pp:160–166.
13. **Martins CI, Galhardo ML, Noble C, Damsgård B, Spedicato MT, Zupa W, Beauchaud M, Kulczykowska E, Massabuau JC, Carter Planellas SR, Kristiansen T.** (2012). Behavioural indicators of welfare in farmed fish. *Fish Physiology Biochemistry* 38:17–21.