

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS
BIO-MANGUINHOS

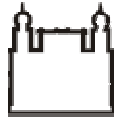
MESTRADO PROFISSIONAL EM TECNOLOGIA DE IMUNOBIOLOGICOS

PROPOSTA DE PARÂMETROS DE PRODUÇÃO E CONTROLE
COMO REQUISITOS PARA REGISTRO SANITÁRIO DE
ANTICORPOS MONOCLONAIS PARA USO TERAPÊUTICO

MONIQUE COLLAÇO DE MORAES STÁVALE

Rio de Janeiro

2016



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Instituto de Tecnologia
em Imunobiológicos
Bio-Manguinhos

INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS
BIO-MANGUINHOS / FIOCRUZ / MS
MESTRADO PROFISSIONAL EM TECNOLOGIA DE IMUNOBIOLOGICOS

MONIQUE COLLAÇO DE MORAES STÁVALE

**Proposta de parâmetros de produção e controle como requisitos para
registro sanitário de anticorpos monoclonais para uso terapêutico**

Dissertação apresentada ao Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos da Fundação Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Imunobiológicos.

Rio de Janeiro

2016

Ficha catalográfica elaborada pela
Seção de Gestão de Documentos e Arquivos / SIGDA
Bio-Manguinhos / FIOCRUZ - RJ

S775

Stávale, Monique Collaço de Moraes.

Proposta de parâmetros de produção e controle como requisitos para registro sanitário de anticorpos monoclonais para uso terapêutico. / Monique Collaço de Moraes Stávale. – Rio de Janeiro, 2016. xviii, 103 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Pós-Graduação em Tecnologia de Imunobiológicos, 2016.

Bibliografia: f. 87-96

1. mAbs. 2. Registro sanitário. 3. Biossimilares. I. Título.

CDD 591.293



INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM IMUNOBIOLOGICOS
Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos

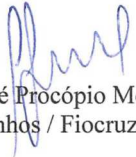
MONIQUE COLLAÇO DE MORAES STÁVALE

PROPOSTA DE PARÂMETROS DE PRODUÇÃO E CONTROLE
COMO REQUISITOS PARA REGISTRO SANITÁRIO DE
ANTICORPOS MONOCLONAIS PARA USO TERAPÊUTICO


Orientadora: Profa. Dra. Elezer Monte Blanco Lemes

Dissertação aprovada em 06 de setembro de 2016

Examinadores:



Prof. Dr. José Procópio Moreno Senna
Bio-Manguinhos / Fiocruz (Presidente)



Profa. Dra. Paula Frassinetti Guimarães de Sá
UNIP



Prof. Dr. Eduardo Ruback dos Santos
INCQS/Fiocruz

RIO DE JANEIRO
2015

À minha família pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Fiocruz por essa grande oportunidade de desenvolvimento profissional e pessoal.

A Bio-Manguinhos pelo apoio e autorização para realização deste trabalho.

À Maria da Luz, Vice-Diretora da Qualidade, por me autorizar e me incentivar a fazer o Mestrado e por ter me dado todo apoio, orientação, confiança e respeito ao longo da minha vida profissional.

A Dr^a Elezer, pela paciência, carinho e apoio, e por ser além de uma exemplar orientadora, uma grande incentivadora.

À Dra. Sheila Farage, que sempre procurou coordenar da melhor forma possível o curso, tendo como foco principal o corpo discente.

À Zaira Antunes Prado pela compreensão e atenção em todos os momentos.

Ao meu marido José Ricardo, por ser meu amor, companheiro e anjo da guarda, pela compreensão, suporte familiar e pelo incentivo de toda a vida.

Ao meu filho Giovanni, pela compreensão em minhas ausências, por alegrar todos os meus dias com seu sorriso contagiante, seu carinho e todas as suas perguntas sobre vírus e bactérias.

A minha filha Marina, que chegou no meio de todo esse turbilhão de demandas, mas que tornou meus dias ainda mais bonitos e cheios de sorrisos e amor.

Aos meus pais, pelo amor incondicional, apoio e todo esforço que fizeram para que eu pudesse chegar até aqui.

A minha cunhada Quézia Oliveira por me incentivar e me ajudar a cuidar da minha filha Marina para que eu pudesse dar continuidade a este projeto.

Aos meus amigos do Mestrado, pelo espírito de companheirismo e por todos os sorrisos e lágrimas que compartilhamos.

A Thomson Reuters por ceder gentilmente a base de dados Cortellis – Módulo Inteligência Regulatória.

A minha família de Águias que me ensinou que ainda é possível ir muito longe quando pensamos que não se pode mais.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho acontecesse.

Mas principalmente a Deus, por me acompanhar em minha Jornada e me direcionar aos caminhos corretos.

“...Portanto, plante seu jardim e decore sua alma ao invés de esperar que alguém lhe traga flores. E você aprende que realmente pode suportar, que realmente é forte, e que pode ir muito mais longe depois de pensar que não se pode mais. E que realmente a vida tem valor e que você tem valor diante da vida.”

Willian Shakespeare

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	x
LISTA DE GRÁFICOS	xiii
LISTA DE QUADROS	xiv
LISTA DE FIGURAS	xvi
1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 – Contexto político e econômico dos produtos biotecnológicos	2
1.2 - Anticorpos	6
1.2.1 - Estrutura	7
1.3 - Anticorpo monoclonal	8
1.4 -Obtenção de anticorpos monoclonais	8
1.4.1 - Obtenção de Anticorpos Monoclonais por Tecnologia de Híbridomas.....	8
1.4.2 - Obtenção de Anticorpos Monoclonais por Tecnologia de ADN Recombinante.....	9
1.5 - Sistemas de expressão mais empregados na produção de anticorpos monoclonais	13
1.6 - Produção de proteínas terapêuticas	14
1.7 - Controle de qualidade	18
1.8 - Aplicações dos anticorpos monoclonais.....	21
1.9 - Contexto regulatório.....	23
1.9.1 - Agência Europeia de Medicamentos	25
1.9.2 - Organização Mundial de Saúde (OMS).....	26
1.9.3 Conselho Internacional de Harmonização.....	27
1.9.4 - Estados Unidos.....	28
1.9.5 - Canadá.....	29
1.9.6 - Austrália.....	30
1.9.7- Japão	30
1.9.8 - Índia	31
1.9.9 - China	32
1.9.10 - Argentina.....	32
1.9.11 - Colômbia.....	33
1.9.13 -Venezuela.....	35
1.9.14 - Cuba	36
1.9.15 - Brasil	37
2 - OBJETIVOS	44
2.1 - Objetivo geral.....	44

2.2 - Objetivos específicos	44
3 - METODOLOGIA	45
3.1.1 – Unidade de Análise do Estudo	46
3.1.2 – Coleta de dados	46
3.1.3 - Diagrama de Ishikawa.....	49
3.1.4 – Proposta de requisitos de produção e controle para registro sanitário de anticorpos monoclonais	51
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1 - Identificação das regulamentações utilizadas como referência para registro anticorpos monoclonais para uso terapêutico	52
4.2 - Construção do Diagrama de Ishikawa	56
4.3 - Proposta de requerimentos de produção de controle de qualidade para registro sanitário de anticorpos monoclonais para uso terapêutico.....	67
4.4 - Contexto regulatório para proteínas terapêuticas incluindo anticorpos monoclonais para uso terapêutico no âmbito dos biossimilares	76
4.5 – Discussão Geral.....	83
5. CONCLUSÃO.....	86
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
ANEXO I.....	97

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac	Anticorpo
AcRs	Anticorpos Recombinantes
AR	Agência Regulatória
CCDA	Citotoxicidade celular dependente de anticorpo
ADN	Ácido Desoxirribonucléico
ANMAT	Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica/ Administração Nacional de Medicamentos, Alimentos e Tecnologia Médica
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARN	Ácido Ribonucleico
BPF	Boas Práticas de Fabricação
RCB	Receptor de células/linfócitos B
BNDES	Banco Nacional do Desenvolvimento
CDR	Complementarity determining regions/ Região determinante de complementaridade
CDSCO	Central Drugs Standard Control Organization Índia / Central de Controle e Padronização de Drogas da Índia
CFDA	China Food and Drug Administration / Administração de Alimentos e Drogas da China
CIS	Complexo Industrial da Saúde
CECMED	Centro para el Control Estatal de la calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Medicos / Centro para o Controle Estatal da Qualidade dos Medicamentos, Equipamentos e Dispositivos Médicos
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios/ Comissão Federal para para Proteção contra riscos Sanitários
DIGEMID	Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas / Direção Geral de Medicamentos, Insumos e Drogas,
DMSO	Dimethylsulfoxide / Dimetil-Sulfóxido
DNVS	Dirección Nacional de Vigilancia Sanitaria / Direção Nacional de Vigilância Sanitária
EDA	Egyptian Drug Authority / Autoridade Egípcia de Drogas

ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay/Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
EMA	European Medicine Agency/Agência de Medicina Europeia
EUA	Estados Unidos da América
Fab	Fragment antigen binding / Fragmento ligante de antígeno
FDA	Food and Drug Administration / Administração de Alimentos e Medicamentos
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HACA	Human Anti Chimeric Antibody/ Anticorpo Humano Anti-Quimérico
HAMA	Human AntiMurine Antibody/ Anticorpo Humano Anti-Murino
HC	Health Canada
HSA	Health Science AuthoritySingapore / Autoridade de Ciências e Saúde de Singapura
ICH	International Concil of Harmonization / Conselho Internacional de Harmonização
IFA	Ingrediente Farmacêutico Ativo
IgA	Imunoglobulina A
IgD	Imunoglobulina D
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
INHRR	Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel / Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel
INN	International Non ProprietaryName / Nome Internacional Não Proprietário
INVIMA	Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos e Alimentos / Instituto Nacional de Vigilância de Medicamentos e Alimentos
ISP	Instituto de Salud Pública/ Instituto de Saúde Pública
Kda	Kilodalton
KFDA	Ministry of Food and Drug Safety South Korea / Ministério da Segurança de Alimentos e Medicamento da Coréia do Sul
mAb	Monoclonal Antibody/Anticorpos Monoclonais
MB	Medicamento Biológico

MBT	Medicamento Biotecnológico
MCB	Master Cell Bank/ Banco de Células Mestre
MCC	Medicines Control Council South Africa / Conselho de Controle de Medicamentos da África do Sul
MEDSAFE	New Zeland Medicines and Medical Devices Safety Authority / Autoridade de Segurança de Medicamentos e Produtos Médicos da Nova Zelândia.
MINSA	Ministério de Salud de Peru / Ministério da Saúde do Perú
MSP	Ministerio de Salud Publica
NA-DFC	National Agency of Drug and Food Control Indonesia / Agência Nacional de Controle de Drogas e Alimentos da Indonésia
NAFDAC	National Agency for Drug and Food Control Nigeria / Agência Nacional de Controle de Medicamentos e Alimentos da Nigéria
NKCell	Natural Killer/ Célula Exterminadora Natural
PDP	Parceria para o Desenvolvimento Produtivo
PEG	Polietileno glicol
PMDA	Pharmaceutical and Medical Device Agency Japan / Agência de Farmacêuticos e Produtos Médicos do Japão
PROCIS	Programa de Investimento no Complexo Industrial da Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan Americana de Saúde
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
scFv	Single-Chain Variable Fragment / Fragmento de anticorpos de cadeia única
SEBs	Subsequenty Entry Biologicals / Biológicos de Entrada Subsequente
SFDA	Saudi Food and Drug Authority / Autoridade de Drogas e Alimentos Saudita
SUS	Sistema Único de Saúde
TGA	Therapeutic Good Administration Australia / Administração de Produtos Terapêuticos da Austrália
UE	União Europeia
WCB	Work Cell Bank/ Banco de Células de Trabalho

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1.1: Crescimento da participação no mercado global de produtos de origem biotecnológica em milhões de dólares em comparação com medicamento de origem química.....	2
--	---

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.1:Empresas Nacionais participantes do consórcio para formação das parcerias para desenvolvimento produtivo..	5
Quadro 1.2: Anticorpos Monoclonais de maior interesse para o desenvolvimento das parcerias para desenvolvimento produtivo.	5
Quadro 1.3: Principais vantagens de cada sistema de cultivo	15
Quadro 1.4: Modos de condução dos principais sistemas de cultivo	16
Quadro 1.5: Principais controles empregados na produção de Anticorpo Monoclonal	20
Quadro 1.6: Exemplos de diferentes aplicações de Anticorpos Monoclonais nas diversas áreas da Medicina	22
Quadro 1.7: Quantitativo de anticorpos monoclonais registrados e os estudos clínicos fase III em andamento na Europa e Estados Unidos considerando a classe terapêutica....	23
Quadro 1.8: Guias publicados pela EMA aplicáveis as etapas de produção, controle e estudos clínicos e não clínicos de anticorpos monoclonais para uso terapêutico.	27
Quadro 1.9:Guias publicados pelo ICH aplicáveis qualidade e segurança de produtos de origem biotecnológica.	29
Quadro 1.10: Quadro comparativo entre as vias regulatórias individual e por comparabilidade para registro de produtos biológicos e produtos biológicos novos	41
Quadro 3.1: Países cobertos pela base de dados Thomson Reuter Cortellis - Módulo Inteligência Regulatória.....	48
Quadro 3.2: Filtros aplicados no módulo Cortellis de Inteligência Regulatória da base de dados Thomson Reuters, utilizando a palavra chave "'monoclonal antibod'.	49
Quadro 4.1: Referências utilizadas pelas Agências Regulatórias que já estabeleceram Guias e orientações para Anticorpos monoclonais inclusive no âmbito dos biossimilares.	56
Quadro 4.2: Demonstração sobre com os parâmetros vetor de expressão e célula hospedeira, banco de células, meio de cultura e outros materiais e processo produtivo são regulados pela EMA, ICH, OMS e ANVISA.	62
Quadro 4.3: Quadro comparativo entre os resultados da construção do Diagrama Ishikawa e a RDC nº 55/2010 considerando os requisitos para vetor de expressão e célula hospedeira.....	68
Quadro 4.4: Quadro comparativo entre os resultados da construção do Ishikawa e a RDC nº 55/2010 ANVISA considerando os requisitos para sistema de banco de células..	69

Quadro 4.5: Quadro comparativo entre os resultados da construção do Diagrama de Ishikawa e a RDC nº 55/2010 ANVISA considerando os requisitos para meio de cultura e outros materiais.....	70
Quadro 4.6: Quadro comparativo entre os resultados da construção do Diagrama de Ishikawa e a RDC nº 55/2010 ANVISA considerando os requisitos para processo produtivo.	71
Quadro 4.7: Quadro comparativo sobre como as principais Agências atualmente regulam diferentes tópicos sobre o tema Biossimilares.....	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Estrutura de uma molécula de Anticorpo. Diagrama esquemático de uma molécula secretada de IgG, o sítio de ligação ao antígeno é formado pela justaposição dos domínios VL e VH.....	6
Figura 1.2: Principais etapas para a obtenção de Anticorpos Monoclonais de origem murina.	9
Figura 1.3: Ciclo de Humanização	12
Figura 1.4: Esquema geral de recuperação e purificação de uma proteína terapêutica	18
Figura 1.5: Representação das vias regulatórias estabelecidas pela RDC n°55/2010	25
Figura 1.6: Diferenças estruturais entre molécula de anticorpo monoclonal original e moléculas bioequivalentes	40
Figura 1.7: Diferença de Complexidade molecular entre hormônio e um anticorpo monoclonal	44
Figura 3.1: Opções de filtros disponíveis na base Thomson Reuter Cortellis - Módulo Inteligência Regulatória para a busca de documentos regulatórios.....	50
Figura 3.2: Representação das principais etapas produtiva de anticorpos monoclonais para uso terapêuticos que farão parte do diagrama de Ishikawa.	52
Figura 4.1: Diagrama de Ishikawa sistematizando as informações das Agências ICH, OMS e EMA quanto aos parâmetros que influenciam na produção e controle de anticorpos monoclonais para uso terapêutico.....	65

RESUMO

Com objetivo de buscar equilíbrio na balança comercial da saúde, e aumentar sua autonomia e capacidade para formular e implementar políticas no âmbito do Sistema Único de Saúde, o governo vem implementando uma série de iniciativas. Nesse contexto, destacam-se os anticorpos monoclonais (mAbs), produto com metodologias de produção e controle de qualidade complexos, com valor agregado elevado e responsáveis por considerável parte dos recursos destinados a saúde. Esta classe de medicamento tem se mostrado uma boa alternativa no tratamento de câncer, artrite reumatoide e doenças autoimunes; indicações terapêuticas de maior crescimento no Brasil e no mundo. A complexidade dessas moléculas alinhada aos riscos ao paciente traz a necessidade de instrumentos regulatórios eficientes, essa questão torna-se mais crítica quando o mAb é um biossimilar. Na regulamentação brasileira (RDC nº 55/2010), não há consideração específica para o registro sanitário de mAbs, esses medicamentos devem atender os mesmos requisitos dos demais produtos biológicos, portanto, é comum que as solicitações de registro sejam analisadas caso a caso. Diante deste cenário, este trabalho avaliou o contexto regulatório para o registro sanitário de mAbs para uso terapêutico considerando as Agências Regulatórias Internacionais. Foi aplicada a metodologia de Estudo de Caso utilizando como fontes de dados, o módulo de Inteligência Regulatória Cortellis Thomson Reuters, os sítios eletrônicos das agências reguladoras, guias internacionais e regulação nacional. De forma a sistematizar as informações encontradas, foi construído um diagrama de Ishikawa onde problema central foi definido como “Produção e Controle de mAbs para uso terapêutico”. Os parâmetros relacionados ao problema central foram categorizados em: Sistemas de Banco de Células, Vetor de Expressão e Célula Hospedeira, Meio de Cultura e Materiais e Processo Produtivo, resultando na proposta de um conjunto de requerimentos fundamentais para o registro de anticorpos monoclonais para uso terapêutico, onde aproximadamente 72% dos itens propostos não constam regulamentação brasileira. Além disso, a avaliação dos documentos aplicáveis a mAbs, mostrou que o ICH, apesar de não ser Agência Regulatória, estabeleceu os primeiros critérios de comparabilidade, assim como requisitos técnicos para células hospedeiras, banco de células e vetor de expressão, sendo até os dias atuais uma referência para diferentes agências. A Agência Europeia de Medicamentos foi pioneira no estabelecimento de requerimentos para o registro de mAbs biossimilares, no entanto utiliza o ICH como referência em diversos aspectos técnicos referentes às etapas de construção. Assim como o ICH, a OMS também não é uma Agência Regulatória, mas atua fortemente na harmonização de requerimentos, possuindo guias completos baseados em discussões maduras que envolvem a comunidade científica e produtores. Neste cenário nossa proposta de requerimentos para registro sanitário é um passo importante para a compreensão e obtenção de conhecimento acerca da discussão de mAbs e biossimilares e a abordagem de diretrizes consideradas impactantes nesta classe de proteínas terapêuticas.

ABSTRACT

Aiming to equalize the trade balance of health, and increase the autonomy and capacity to formulate and implement policies in the Unified Health System, the Government has implemented several initiatives. In this context, stand out the monoclonal antibodies (mAbs) product with complex methods of production and quality control, high added value and responsible for a considerable part of the health resources. This class of medicine has been shown to be a good alternative in the treatment of cancer, rheumatoid arthritis and autoimmune diseases; therapeutic classes of higher growth in Brazil and in the world. The complexity of these molecules aligned to the risks to the patient brings the need of efficient regulatory instruments; this issue becomes more critical when the mAb is a biosimilar. In the Brazilian regulations (RDC No. 55/2010), there is no specific consideration for the sanitary registration of mAbs, these drugs must meet the same requirements as other biological products, so it is common that registration requests are analyzed on a case by case basis. In this scenario, this study evaluated the regulatory framework for the registration of mAbs for therapeutic use considering the International Regulatory Agencies. It was applied the case study methodology using as data sources, the Regulatory Intelligence module Cortellis Thomson Reuters, the electronic sites of regulatory agencies, international guidelines and the national regulation. In order to systematize the information found, it has built an Ishikawa diagram where central problem was defined as "Production and Control mAbs for therapeutic use." The parameters related to the central problem were categorized into: Cell Bank Systems, Expression Vectors and Host Cell, Medium Culture and materials and Production Process, resulting in the proposal of set requirements for the registration of monoclonal antibodies for therapeutic use, where approximately 72% of the proposed items are not included Brazilian regulations. In addition, the evaluation of the documents apply to mAb showed that ICH, although is not Regulatory Agency established the first comparability criteria, as well as technical requirements for host cells, cell bank and expression vector, and till this day is a reference to different Agencies. The European Medicines Agency was a pioneer in the establishment of requirements for the registration of mAbs biossimilares, however uses the ICH reference in various technical aspects relating to the upstream stages. As the ICH, WHO is not a regulatory agency but has a strong presence in the harmonization of requirements, having complete guides based on mature discussions involving the scientific community and producers. In this scenario our proposed requirements for sanitary registration is an important step in understanding and gaining knowledge about mAbs and biossimilares discussion and the approach of guidelines considered impactful in this class of therapeutic proteins.

1 – INTRODUÇÃO

O Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) é a unidade da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) responsável pelo atendimento às demandas do Ministério da Saúde em relação a Vacinas, Biofármacos e Kits para Diagnóstico. O instituto atua ainda em Desenvolvimento tecnológico, sendo o investimento em inovação outra marca do instituto, assim como o domínio de tecnologias de ponta e modernos processos de produção.

Bio-Manguinhos está sempre em busca de novas tecnologias, e parcerias com outras instituições, o que garante acordos de transferência de tecnologia e de desenvolvimento tecnológico contribuindo para a evolução dos projetos do instituto. O cumprimento dos requerimentos de Boas Práticas de Fabricação (BPF) assim como a certificação de qualidade de seus laboratórios faz do Instituto um importante agente para a melhoria da saúde pública do país (FIOCRUZ, 2016).

Diante disto, Bio-Manguinhos é considerado como uma referência com o maior potencial para liderar as políticas de desenvolvimento produtivo no setor público através do Complexo Industrial da Saúde (CIS). Existe uma forte dependência do Brasil no que se refere às importações refletindo em um déficit em US\$ 11 bilhões na balança comercial, desse montante 10% está voltado para os produtos biológicos. (Ministério da Saúde, 2013).

A necessidade de buscar um maior equilíbrio comercial tem sido pauta em vários fóruns de discussão no governo. A redução das importações, o aumento nas exportações e a maior participação do país em mercados internacionais são fundamentais para o sucesso desta meta.

Além disso, em se tratando do Complexo Industrial da Saúde (CIS), agrega-se ainda a lógica social, pois existe um forte peso dos gastos com produtos biológicos entre as compras diretas do Ministério da Saúde, sendo assim, o estabelecimento de produção local desses bens tenderia a aumentar a oferta e reduzir o preço, promovendo maior acesso da população a produtos e serviços (Ministério da Saúde, 2012).

Nesse contexto, destacam-se os anticorpos monoclonais (mAbs), produto com métodos de produção e controle de qualidade complexos, com valor agregado extremamente elevado, e que têm se mostrado uma boa alternativa no tratamento de câncer, artrite reumatoide e doenças autoimunes, indicações terapêuticas de maior crescimento de demanda no mundo e particularmente no Brasil (Reis et al, 2010).

1.1 – Contexto político e econômico dos produtos biotecnológicos

A rota biotecnológica vem ganhando significativa importância ao longo dos anos. Apesar dos produtos originados a partir de síntese química responderem pela maior parte da receita da indústria farmacêutica no mundo, os produtos de origem biológica vêm ganhando expressão no mercado global. No gráfico 1.1, é possível visualizar o crescimento da participação desses produtos no mercado em função dos medicamentos originados a partir de síntese química (Vargas et al, 2013).

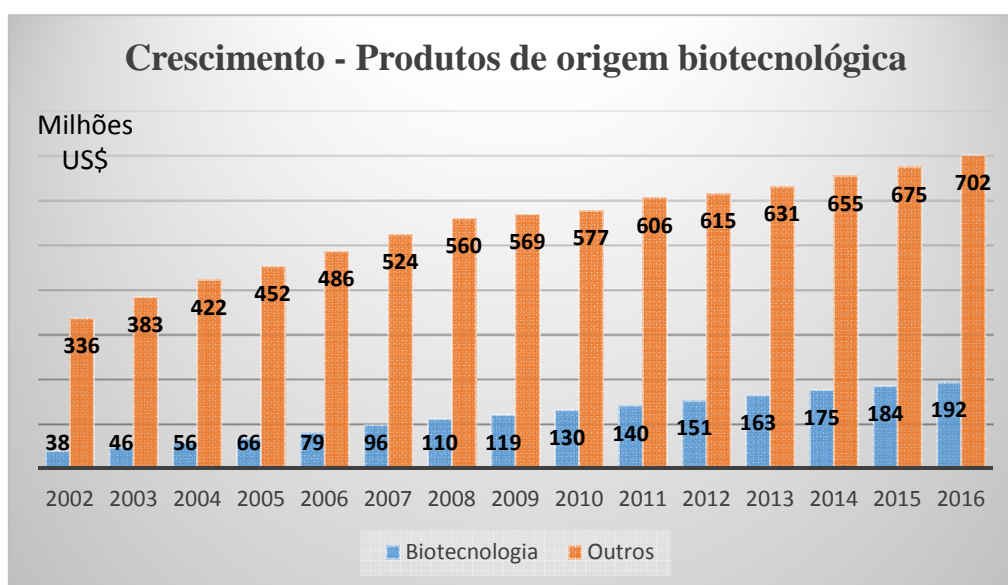


Gráfico 1.1: Crescimento da participação no mercado global em milhões de dólares de produtos de origem biotecnológica em comparação com medicamento de origem química. (Vargas et al, 2013).

Existem algumas justificativas para que o cenário de biotecnológicos seja tão promissor. Dentre elas, a eminência do término das patentes dos primeiros medicamentos registrados e a redução da descoberta de moléculas inovadoras derivadas de síntese química (Reis et al, 2010).

Outro fator relevante é a consolidação global de um perfil epidemiológico com maior prevalência de doenças crônicas degenerativas. Não por acaso, as indicações

terapêuticas líderes em vendas de medicamentos no mundo são aquelas voltadas para o tratamento de câncer, diabetes e doenças autoimunes. No que se refere aos aspectos sociais, devido ao aumento do poder aquisitivo e envelhecimento da população, existe uma maior exigência ao acesso por novos produtos e serviços de alta tecnologia (Reis et al, 2010).

Em relação ao Brasil, os produtos biológicos (vacinas, biofármacos, incluindo os anticorpos monoclonais e produtos derivados do sangue) são disponibilizados para a população através dos programas do Ministério da Saúde. Mesmo aqueles medicamentos que não constam nas listas dos programas, podem ser solicitados pela população por meio de mandados judiciais baseados no artigo nº 196 Constituição Federal que determina:

Art. 196. A saúde é direito de todos e dever do Estado, garantido mediante políticas sociais e econômicas que visem à redução do risco de doença e de outros agravos e ao acesso universal e igualitário às ações e serviços para sua promoção, proteção e recuperação (Brasil, 1998).

Essa é uma das principais razões para que os Programas do Ministério da Saúde consumam grande parte do Orçamento destinado a saúde. Os produtos biológicos são os maiores responsáveis pelo consumo do orçamento do Ministério, pois apesar de representarem apenas 2% dos medicamentos distribuídos, consomem cerca de 41% do recurso destinado aos medicamentos para os programas governamentais (Castanheira et al, 2011).

Atualmente existe uma forte dependência do país em relação a esses produtos. As importações de biológicos são expressivas, contribuindo significativamente para o déficit da balança comercial. Como o desenvolvimento desta classe de produtos é altamente complexo, torna-se extremamente dispendioso sua produção pelas indústrias brasileiras, que ficaram com uma defasagem tecnológica, e até então não foram capazes de competir sozinhas neste mercado.

Com objetivo de buscar um maior equilíbrio na balança comercial da saúde, e reduzir a vulnerabilidade na sua capacidade futura de, autonomamente, formular e implementar políticas de saúde; particularmente no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), o governo vem discutindo e implementando uma série de iniciativas.

Tais iniciativas incluem a publicação da Portaria nº 1.284 de 2010, revogada pela atual portaria 3.089 de 2013, que contempla os produtos prioritários para o SUS, a

instituição do Programa de Investimento no Complexo Industrial da Saúde (PROCIS), o qual prevê R\$ 2 bilhões em produção e desenvolvimento tecnológico e o uso do poder de compra do Estado, já definido no Decreto nº 7.713, que favorece a indústria doméstica nos processos de licitação para compras governamentais, dando margem de preferência de até 25% para produtos nacionais provenientes de desenvolvimento e inovação tecnológica realizados no País.

Outra iniciativa é a formação de Parcerias para o Desenvolvimento Produtivo (PDP) entre empresas farmacêuticas privadas e laboratórios públicos para produção de biológicos no Brasil, seja para ampliar o acesso da população a produtos estratégicos e diminuir a vulnerabilidade do Sistema Único de Saúde (SUS), seja reduzindo a dependência produtiva e tecnológica para racionalizar o poder de compra na área da saúde e fomentar o desenvolvimento tecnológico e o intercâmbio de conhecimentos. Nesse contexto, a transferência de tecnologia é uma excelente opção, pois assegura que o desenvolvimento científico e tecnológico seja acessível para uma gama maior de produtores que podem desenvolver e explorar a tecnologia em novos produtos, processos, aplicações, materiais e serviços.

Em 2012, em função da criação da Farmabrazil, entidade que representa os interesses das indústrias farmacêuticas de capital nacional, foram estabelecidos, com o apoio do governo brasileiro, e a parceria do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES), dois consórcios de empresas para atuar no mercado de medicamentos biológicos. Tal ação tinha o objetivo de desenvolver a indústria de biotecnológicos no país e conseqüentemente maior independência no que se refere a esta classe de produtos (Ministério da Saúde, 2013). Os Consórcios inicialmente contavam com oito empresas Nacionais, no entanto duas delas (Cristália e Libbs) decidiram deixar o consórcio. No quadro 1.1 estão as empresas que atualmente compõe os consórcios para atuação no mercado de medicamentos biológicos.

Inicialmente os consórcios receberam uma lista de sete anticorpos monoclonais considerados como de maior interesse, correspondendo a 2,4 bilhões em gastos para o governo. Esses anticorpos estão apresentados no quadro 1.2.

ORYGEN	BIONOVIS
Eurofarma	EMS
Biolab	Aché
	União Química
	Hypermarcas

Quadro 1.1: Empresas Nacionais participantes do consórcio para formação das parcerias para desenvolvimento produtivo. (Ministério da Saúde, 2013).

MEDICAMENTO	INDICAÇÃO
Infliximabe	Doença de Crohn
Etanercepte	Psoríase
Bevacizumabe	Câncer colorretal
Cetuximabe	Câncer de pulmão
Trastuzumabe	Câncer de mama e gástrico
Adalimumabe	Psoríase / Artrite reumatoide
Rituximabe	Artrite reumatoide

Quadro 1.2: Anticorpos Monoclonais de maior interesse para o desenvolvimento das parcerias para desenvolvimento produtivo. (Ministério da Saúde, 2013).

Considerando a publicação da Portaria nº2.531/2014, a qual estabeleceu as diretrizes e os critérios para a definição da lista de produtos estratégicos para o SUS e o estabelecimento das PDP, no mesmo ano o MS publicou a Portaria nº2.888/2014. Nesta foi apresentada uma lista de produtos considerados estratégicos para o SUS formada por onze medicamentos e dez equipamentos/produtos para saúde. Dos medicamentos apresentados, cinco são de natureza biológica, sendo três categorizados como mAbs (Ministério da Saúde, 2014a e Ministério da Saúde, 2014b).

Diante desse cenário e considerando as iniciativas governamentais, é necessário que todos os envolvidos nesse processo, principalmente as indústrias e a Agência Regulatória Nacional se empenhem para ampliar seus conhecimentos no entendimento de moléculas complexas (anticorpos monoclonais) que exigirão grandes esforços de todos os envolvidos para que resultados planejados no estabelecimento das PDPs sejam alcançados.

1.2 - Anticorpos

Desde seu descobrimento, estudos na área da Imunologia vêm despertando a atenção de pesquisadores das mais diversas áreas e a comunidade científica tem demonstrado seu reconhecimento a esses estudos.

Ao longo dos anos, várias aplicações para os anticorpos foram identificadas, inicialmente eram utilizados os anticorpos policlonais extraídos de animais imunizados, mas foi a partir de 1975, com a publicação de Köhler e Milstein (1975) sobre tecnologia de hibridomas para obtenção de anticorpos monoclonais, que os estudos dessas proteínas para uso terapêutico ganharam destaque (Köhler e Milstein, 1975).

Anticorpos ou Imunoglobulinas são glicoproteínas sintetizadas e excretadas por linfócitos B presentes no plasma, tecidos e secreções em resposta à exposição a estruturas não próprias conhecidas como antígenos. Os anticorpos são incrivelmente diversos e específicos em sua capacidade de reconhecimento e são mediadores primários da imunidade humoral contra todas as classes de microrganismos (Abbas et al, 2012).

Os anticorpos podem existir de duas formas: ligados à membrana dos linfócitos B, funcionando como receptor de antígeno destas células (BCR, do inglês B cell receptor); ou secretados, presentes na circulação, tecidos e mucosas, ligando-se a antígenos, neutralizando toxinas e prevenindo a entrada e espalhamento dos patógenos (Abbas et al, 2012).

A ligação antígeno-anticorpo é a função primária dos anticorpos que pode resultar em proteção ao hospedeiro. A valência do anticorpo refere-se ao número de determinantes antigênicos que uma molécula individual de anticorpo pode se ligar. A valência de todos os anticorpos é pelo menos duas e em alguns casos mais, ou seja, cada anticorpo possui capacidade de reconhecer e de se ligar a pelo menos duas moléculas do mesmo antígeno, o que demonstra sua diversidade no reconhecimento de estruturas não próprias (Abbas et al, 2012).

Com frequência, a ligação de um anticorpo a um antígeno, não resultará em um efeito biológico direto. Na verdade, os efeitos significantes são consequências de funções efetoras secundárias, que são ativadas quando há a ligação da região variável do anticorpo ao antígeno.

1.2.1 - Estrutura

As imunoglobulinas ou anticorpos são moléculas com estrutura tridimensional expressa na membrana do linfócito B, são classificadas em: **IgA, IgD, IgE, IgG e IgM**. Todas elas compartilham da mesma estrutura molecular básica, apresentando grande variabilidade na região de ligação com os antígenos, o que permite que diferentes anticorpos se liguem a um grande número de antígenos estruturalmente diferentes (Abbas et al, 2012).

A estrutura básica das Imunoglobulinas é formada por duas cadeias leves (≈ 25 kDa) idênticas e duas cadeias pesadas (≈ 50 kDa) idênticas, as quais são unidas por uma ponte dissulfeto. Ambas as cadeias são compostas por regiões aminoterminais variáveis (V), que participam do reconhecimento de antígenos e regiões carboxiterminais constantes (C) (Padlan, 1994). A estrutura básica de um anticorpo está apresentada na figura 1.1.

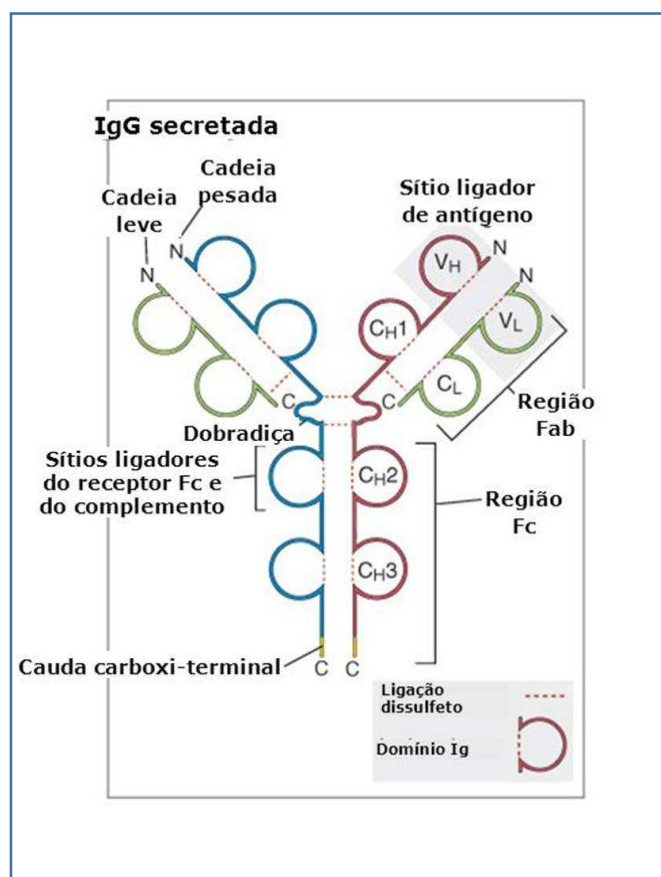


Figura 1.1: Estrutura de uma molécula de Anticorpo. Diagrama esquemático de uma molécula secretada de IgG, o sítio de ligação ao antígeno é formado pela justaposição dos domínios VL e VH. (Adaptado de Abbas et al, 2012).

1.3 - Anticorpo monoclonal

Os Anticorpos Monoclonais são moléculas de anticorpos produzidas a partir de um único clone de linfócito B, portanto são idênticas em relação às suas funções físico-químicas, biológicas e especificidade (Montaño e Pujol, 2001). A descoberta dessas moléculas em 1975 revolucionou a imunologia, e rapidamente tornaram-se uma ferramenta importante em diversas áreas, como bioquímica, biologia molecular e principalmente na medicina, uma vez que atuam como um importante agente terapêutico no tratamento de doenças autoimunes e diversos tipos de câncer levando empresas a investirem bilhões de dólares no desenvolvimento e produção em alta escala de moléculas mais seguras e eficazes (Jain e Kumar, 2008).

1.4 -Obtenção de anticorpos monoclonais

1.4.1 - Obtenção de Anticorpos Monoclonais por Tecnologia de Hibridomas

Em 1975, Kohler e Milstein apresentaram a possibilidade de produção de anticorpos monoclonais através da fusão de um linfócito B com células mielomatosas (células tumorais imortais). Nesta técnica, conhecida como tecnologia de hibridomas, células esplênicas secretoras de anticorpos e incapazes de sobreviver por longo tempo em cultura, são isoladas de um camundongo BALB/c previamente imunizado, fundidas com linfócitos B tumorais, chamadas mielomas. Depois de fundidas, estas células híbridas, ou hibridomas, reúnem características das duas células de origem: são capazes de crescer em cultura por longos períodos de tempo e de secretar anticorpos (Köhler e Milstein, 1975).

Esse tipo de Anticorpo Monoclonal (mAb), classificado como de primeira geração, é conhecido como murino, e é amplamente utilizado em técnicas analíticas, no entanto, devido à impossibilidade da utilização de anticorpos de roedores em humanos devido à resposta HAMA (Human Anti – Murine Antibody), que consiste no reconhecimento dos anticorpos murinos como estranhos ao sistema imunológico humano, sua utilização para fins terapêuticos foi limitada.

De forma geral, as principais etapas para obtenção de Anticorpos Monoclonais por Tecnologia de Hibridomas estão apresentadas na Figura 1.2.

1.4.2 - Obtenção de mAbs por Tecnologia de ADN Recombinante

A utilização de anticorpos completamente humanos é uma excelente opção para a eliminação da imunogenicidade e aumento eficácia no tratamento com anticorpos monoclonais, porém, neste caso a principal limitação está na obtenção, pois para este tipo de anticorpo é necessário a utilização de humanos ou animais o que seria inviável por questões éticas.



Figura 1.2: Principais etapas para a obtenção de Anticorpos Monoclonais de origem murina (Adaptado de Dean e Shepherd, 2000).

O desenvolvimento de anticorpos monoclonais recombinantes (AcR), foi então impulsionado pela expectativa do uso dessas moléculas com finalidade clínica e pela inviabilidade de construção de anticorpos completamente humanos. Neste caso, são empregadas técnicas de biologia molecular e ADN recombinante, onde os AcRs são gerados através da imortalização dos genes que codificam a molécula de Imunoglobulinas, ao invés da imortalização da célula produtora de anticorpo como ocorre com os mAbs de origem murina. Neste grupo estão os Anticorpos Quiméricos e os Anticorpos Humanizados (Montaño e Pujol, 2001).

a) Anticorpo Monoclonal Quimérico

Um anticorpo quimérico é uma molécula artificial construída através das ferramentas de ADN recombinante. Neste caso, ocorre a fusão dos segmentos de ADN que codificam as regiões variáveis das cadeias leves e pesadas de um anticorpo de origem

murina com fragmentos de ADN que codificam as cadeias constantes de origem humana. Como as porções mais imunogênicas das moléculas de Imunoglobulina estão associadas a fração constante, a partir desta técnica foi possível a redução da imunogenicidade sem que as especificidades fossem afetadas.

Os anticorpos monoclonais obtidos por essa técnica foram classificados como de segunda geração, e quando bem construídos, demonstram capacidade de mediar eficientemente funções efetoras assim como a ativação do sistema complemento e aumento da meia vida plasmática.

A partir dessa tecnologia foi possível a obtenção de uma variedade de mAbs para uso terapêutico, como exemplo, temos o Abcximab, o Rituximab e o Infliximab. No entanto, reações de imunogenicidade identificadas como resposta HACA (Human Anti-Chimeric Antibody) foram observadas nos anticorpos quiméricos (Montanõ e Pujol, 2001).

b) Anticorpo Monoclonal Humanizado

Visando reduzir a imunogenicidade ainda observada nos anticorpos quiméricos e aumentar a aplicação terapêutica, foi desenvolvida uma tecnologia de construção de anticorpos monoclonais humanizados.

Na humanização ocorre a recombinação gênica por enxerto (*grafting*) de forma a substituir as regiões determinadoras de complementaridade (CDR – Complementarity Determing Region) dos genes humanos pelo equivalente murino. Com esta técnica, é preservada a especificidade semelhante a dos anticorpos obtidos pela tecnologia de hibridomas, porém a molécula preservará as propriedades do anticorpo humano. Cada domínio variável, tanto da cadeia leve como da cadeia pesada, possuirá três regiões CDRs respondendo pela afinidade de ligação ao antígeno (Maranhão e Brígido, 2001).

Esse procedimento leva a obtenção de anticorpos menos imunogênicos e reações adversas menos intensas, e por este motivo essa tecnologia vem ganhando espaço nos produtos em desenvolvimento.

Em relação à produção, essas construções gênicas podem ser inseridas em células animais que expressarão as proteínas de interesse, assim como ocorre com os anticorpos quiméricos (Maranhão e Brígido, 2001).

c) Anticorpo Monoclonal Humano

Para a construção de anticorpos monoclonais humanos, também são utilizadas técnicas de ADN recombinante.

Neste caso as metodologias que apresentam resultados mais expressivos são:

- Anticorpos obtidos a partir de animais transgênicos:

Na obtenção de anticorpos monoclonais transgênicos, a modificação genética é realizada no camundongo e não na célula produtora de anticorpo. Neste caso, ocorre a inativação dos genes codificantes para as cadeias leve e pesada na célula embrionária e são introduzidos segmentos grandes de ADN contendo os genes para as cadeias leves e pesadas de imunoglobulinas humanas, com isso o animal passará a produzir moléculas completamente humanas.

A próxima etapa será a hiperimunização dos animais transgênicos com um antígeno de interesse resultando na ativação clonal dos linfócitos B, produzindo assim anticorpos humanos.

A obtenção de linfócitos B imortalizados expressando anticorpos pode ser obtida pela tecnologia padronizada de hibridização, o que leva a produção de anticorpos totalmente humanos a partir de células de linhagem estabelecida (Krauss, 2003).

- Anticorpos Obtidos por Bibliotecas Genômicas

As bibliotecas genômicas, podem ser uma estratégia para produção para produção de moléculas inteiras ou fragmentos anticorpos (Ac) derivados de tecnologia de ADN recombinante, semelhantes àquela utilizada pelo sistema imune humoral neste caso são produzidos anticorpos completamente humanos evitando a imunização e construção de hibridomas.

Fagos são estruturas virais constituídas por uma molécula de ácido nucléico, que pode ser ADN ou ARN, envolvida por um capsídeo, sendo uma opção para produção de fragmentos de anticorpos (Fab, scfv). Para se replicarem precisam infectar uma bactéria, que em geral apresenta sítios receptores específicos para determinados vírus. Neste sentido, a técnica em questão consiste no isolamento e clonagem da região variável dos genes das cadeias leve e pesada da imunoglobulina para apresentá-la funcionalmente em

um fago. A fonte dos genes dos doadores da imunoglobulina pode ser animal ou humana, imunizada ou não imunizada (Cruz, 2010).

Na figura 1.3 é possível visualizar as diferenças entre os anticorpos monoclonais considerando o ciclo de humanização:

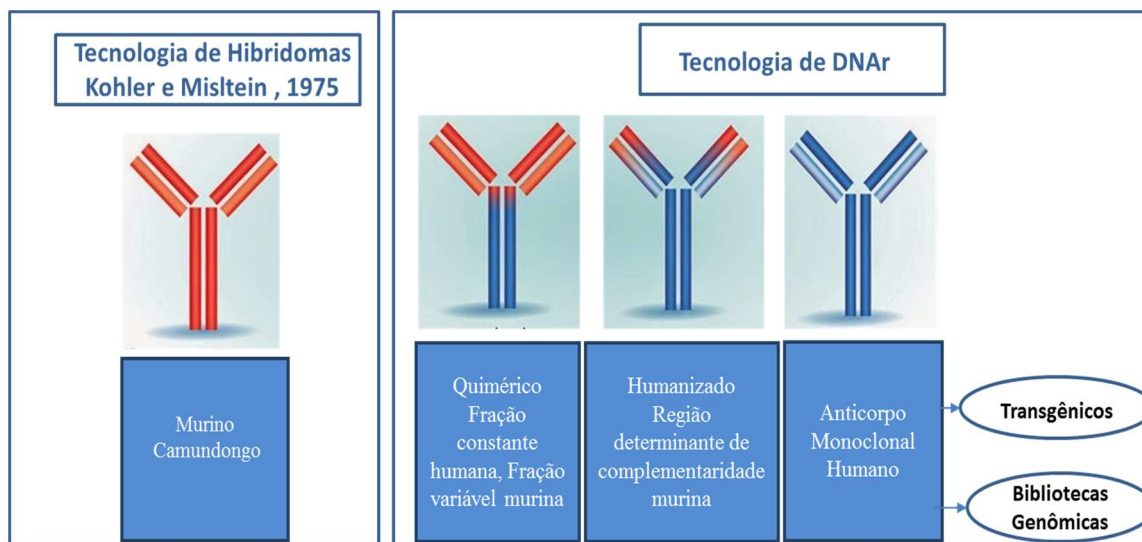


Figura 1.3: Ciclo de Humanização – (A) Anticorpo Monoclonal Murino obtido pela tecnologia de Hibridomas desenvolvida por Köhler e Milstein. (B) Anticorpo Monoclonal Quimérico, fusão dos segmentos de ADN que codificam as cadeias leves e pesadas de um anticorpo de origem murina com fragmentos de ADN que codificam as cadeias constantes de origem humana. (C) Anticorpo Monoclonal Humanizado – Transplante de CDRs humanas. (D) Anticorpo Monoclonal Humano substituição dos genes do camundongo por genes codificantes para as cadeias leves e pesadas de imunoglobulina humana (Adaptado de Casanova Estruch, B., 2013)

d) Fragmentos de Anticorpo – *Minibodies*

Outra importante abordagem derivada dos estudos com anticorpos monoclonais são os fragmentos de anticorpos. Neste caso, anticorpos monoclonais derivados da tecnologia de ADN recombinante são obtidos em fragmentos mínimos, reconstruídos e fusionados a uma imensa gama de moléculas, como enzimas para ativação de pró-fármacos, toxinas para tratamento de câncer, lipossomas para melhorar a entrega da droga e biossensores para detecção de moléculas alvo.

Como consequência desses novos desenhos estruturais, temos outras possibilidades como uma maior seletividade e uma melhor afinidade (Holliger e Hudson, 2005).

e) Redução da Imunogenicidade - Anticorpos obtidos a partir da técnica de desimunização

Em busca da disponibilização de anticorpos cada vez mais eficazes e menos imunogênicos, novas tecnologias estão sendo desenvolvidas. Como exemplo, temos a técnica de desimunização, que consiste em realizar um mapeamento de epítomos potenciais desencadeadores de reações de imunogenicidade. Uma vez identificados, esses epítomos são removidos da molécula através de técnicas de biologia molecular. Simultaneamente é realizada uma análise de estrutura para garantir que a atividade da proteína permanece inalterada (Antitope, 2016).

1.5 - Sistemas de expressão mais empregados na produção de anticorpos monoclonais

Para viabilizar a produção de proteínas heterólogas, existem vários critérios que precisam ser analisados, como estabilidade e solubilidade da proteína e a facilidade na manipulação do hospedeiro, porém a escolha do Sistema de Expressão deve ser baseada principalmente no produto de interesse (Chadd e Chamow, 2001).

Atualmente existem diferentes tipos de sistemas de expressão para proteínas terapêuticas. o de bactéria gram-negativa *Escherichia coli* é o mais utilizado por ter um rápido crescimento, utilizar um meio de cultivo simples e barato e por possuir expressão e linhagens bem caracterizadas. No entanto, devido a falta de modificações pós traducionais essenciais para a expressão de proteínas com alto grau de complexidade, esse sistema não é a melhor opção para expressão de anticorpos monoclonais íntegros, podendo ser utilizado, no entanto, na produção de fragmentos de anticorpos. (Tamashiro et al, 2008).

Para moléculas inteiras de anticorpos como a Imunoglobulina G, o sistema de expressão mais adequado são as células eucarióticas, pois possuem padrões de modificações pós traducionais como a glicosilação, mais parecidos com mamíferos. Esta característica permite a manutenção da fidelidade molecular, o que é importante tanto para a função efetora como para farmacocinética do produto (Serpieri, 2009).

Sendo assim, os parâmetros relacionados a esta etapa devem ser monitorados, pois possuem impacto não só na eficácia do produto, mas também na segurança, uma vez que alterações nesses padrões podem levar a um aumento da imunogenicidade da molécula. É importante colocar que apesar de menos relatadas, existem outras modificações pós

traducionais que podem levar a imunogenicidade, como por exemplo, fosforilação, metilação e acetilação (Hermeling et al, 2004).

1.6 - Produção de proteínas terapêuticas

A complexidade dos anticorpos monoclonais não está somente na construção e obtenção da molécula. A escolha das condições básicas de cultivo *in vitro*, o conhecimento do metabolismo celular, o sistema de biorreação e purificação apresentam diversos importantes pontos de controle. O cultivo de células animais possui uma série de variáveis importantes, que podem estar relacionadas ao ambiente, como por exemplo, a temperatura, pH, concentração de oxigênio, nutrientes e metabólitos, ou relacionadas à própria célula, como a concentração, tamanho médio ou mesmo concentração de determinada enzima intracelular (Léo et al, 2008).

Existem inúmeros sistemas de cultivo para células eucarióticas com fins comerciais, dependentes fundamentalmente da demanda do produto e do rendimento do processo. No Quadro 1.3 podem ser observadas as principais vantagens de cada sistema de cultivo e no Quadro 1.4 os modos de condução destes cultivos (Griffiths, 1999).

Ao final da biorreação, é preciso realizar a separação do produto obtido no cultivo de células, que podem estar em duas formas: secretado no meio extracelular onde as células podem ser removidas por técnicas de separação sólido-líquido ou localizado intracelularmente. Neste caso, é necessária a extração da massa celular, o que leva a liberação de espécies moleculares contaminantes livres. No caso de células eucarióticas, sistema utilizado para obtenção de moléculas inteiras de anticorpos monoclonais, o produto é secretado no meio extracelular, o que torna o processo de purificação mais simples (Moraes et al, 2008).

O objetivo da purificação é a obtenção da biomolécula de interesse alto com grau de pureza, para que seja assegurada a qualidade do produto e assim preservada a segurança do paciente.

Para adotar uma estratégia de isolamento e purificação de uma proteína é importante obter o maior número possível de informações a respeito da proteína e do meio (meio de cultivo de células, tecidos vegetais ou animais) onde ela se encontra (Moraes et al, 2008).

Sistema de Cultivo	Vantagens	Fatores Determinantes na escolha do sistema de cultivo
Garrafas Roller	Cultivo celular bem estabelecido, empregado na produção de células e produtos. Primeiro sistema de aumento de escala para células dependentes de ancoragem. A contaminação de uma garrafa não significa perda de todo o lote, diferente de um processo unitário onde isso ocorreria	Dependendo da linhagem celular e das utilidades para incubação empregadas, pode ocorrer crescimento não uniforme. Pode ocorrer limitação no fornecimento de oxigênio quando a concentração celular e o volume de trabalho aumentam
Frascos Agitados do tipo Spinner	Primeiro passo para escalonamento de processo, quando o cultivo de células ocorre em suspensão ou em células dependentes de ancoragem usando microcarregadores. Tamanhos variam de poucos mililitros até 20 Litros, mas para maior praticidade de uso é recomendado 10 Litros como um tamanho máximo.	Pode ocorrer limitação no fornecimento de oxigênio quando a concentração celular e o volume de trabalho aumentam.
Biorreatores do tipo <i>air-lift</i>	Ar ou oxigênio é bombeado para dentro do Biorreator na parte inferior mantendo as células em suspensão sem a necessidade de agitadores. A altura de biorreatores do tipo <i>Air lift</i> é muito superior ao seu diâmetro. A adição de detergente não iônico é recomendável para prevenir espuma especialmente em meios com alta concentração de proteínas.	Geralmente não ultrapassam um volume útil de 2000L.
Biorreatores do tipo tanque agitado	Tanques de aço inox com agitação mecânica e aeração, geralmente por aspersão de gases. Sistemas homogêneos com monitoramento e controle do processo avançados	Geralmente não ultrapassam um volume útil de 20000L.

Quadro 1.3: Principais vantagens de cada sistema de cultivo (Adaptado de Griffiths, 1999)

Modo de Operação	Vantagens	Fatores Determinantes na escolha do modo de operação
Cultivo em Batelada	Duração depende da densidade de inoculação, da linhagem celular e das características de crescimento celular. Após cada cultivo o reator tem que ser limpo e esterilizado.	Concentração de Produto normalmente atinge 100 a 200mg/L.
Batelada Alimentada	O meio de cultivo é alimentado continuamente ou intermitentemente, não havendo retirada de meio (volume crescente). A densidade celular é relativamente baixa (geralmente inferior a $5,0 \times 10^6$ células/mL).	Concentração de produto normalmente atinge 100 a 500 mg/mL.
Perfusão	Alimentação contínua de meio fresco, e remoção contínua de meio cultivado. As células são retidas (ou recicladas) no biorreator em decorrência do uso de um equipamento de separação celular interna ou externamente ao biorreator.	Alto rendimento por unidade de tempo e volume do reator, alta densidade celular (maior que 10^7 /mL), concentração de produto podendo atingir 1000mg/L.

Quadro 1.4: Modos de condução dos principais sistemas de cultivo (Adaptado de Griffiths, 1999)

É importante considerar que os anticorpos monoclonais são proteínas de alto valor agregado, e normalmente a cada processo de purificação há perda de proteínas levando a uma diminuição no rendimento do processo. Por outro lado a diminuição das etapas de purificação pode levar a proteínas com grau de pureza abaixo do especificado (Moraes et al, 2008).

Alguns métodos de purificação conduzem a rendimentos maiores que outros. Assim, através de uma seleção criteriosa, deve-se buscar maximizar os rendimentos das

etapas individuais com uma perda mínima de pureza. No caso de produto para uso terapêutico, deve haver a remoção de todos os tipos de contaminantes, pois geralmente o grau de pureza requerido pelas Agências Regulatórias (ARs) é superior a 99,9% (Moraes et al, 2008).

Na purificação de proteínas terapêuticas, as técnicas de cromatografia são muito utilizadas, pois apresentam alta resolução, significantes níveis de purificação, de concentração e de recuperação, devido à alta especificidade entre o ligante e a proteína de interesse. A cromatografia separa, então, os componentes de uma mistura, presentes em uma fase móvel, de acordo com os diversos graus de interação com uma fase estacionária através da qual a fase móvel permeia, permitindo a separação das frações na saída do leito de fase sólida (Ciola, 1998). Na figura 1.4 está apresentado o esquema de recuperação e purificação de um produto biotecnológico.

De forma geral, os métodos utilizados para purificação de proteínas são baseados na solubilidade, tamanho, carga elétrica, especificidade de interação com os ligantes e hidrofobicidade superficial.

A próxima etapa do no processo de fabricação de uma proteína terapêutica é a formulação. Esta etapa deve possuir pontos de controle, pois está diretamente relacionada à estabilidade da molécula, manutenção de sua integridade estrutural, e atividade biológica (Etcheverrigaray et al, 2008).

É importante colocar ainda que para cada etapa do processo de manufatura devem existir controles em processo. Na abordagem atual, o controle em processo faz parte da estratégia do controle de qualidade e deve ser baseado na definição dos parâmetros críticos do processo e no desempenho esperado do produto (ICH, 2009).

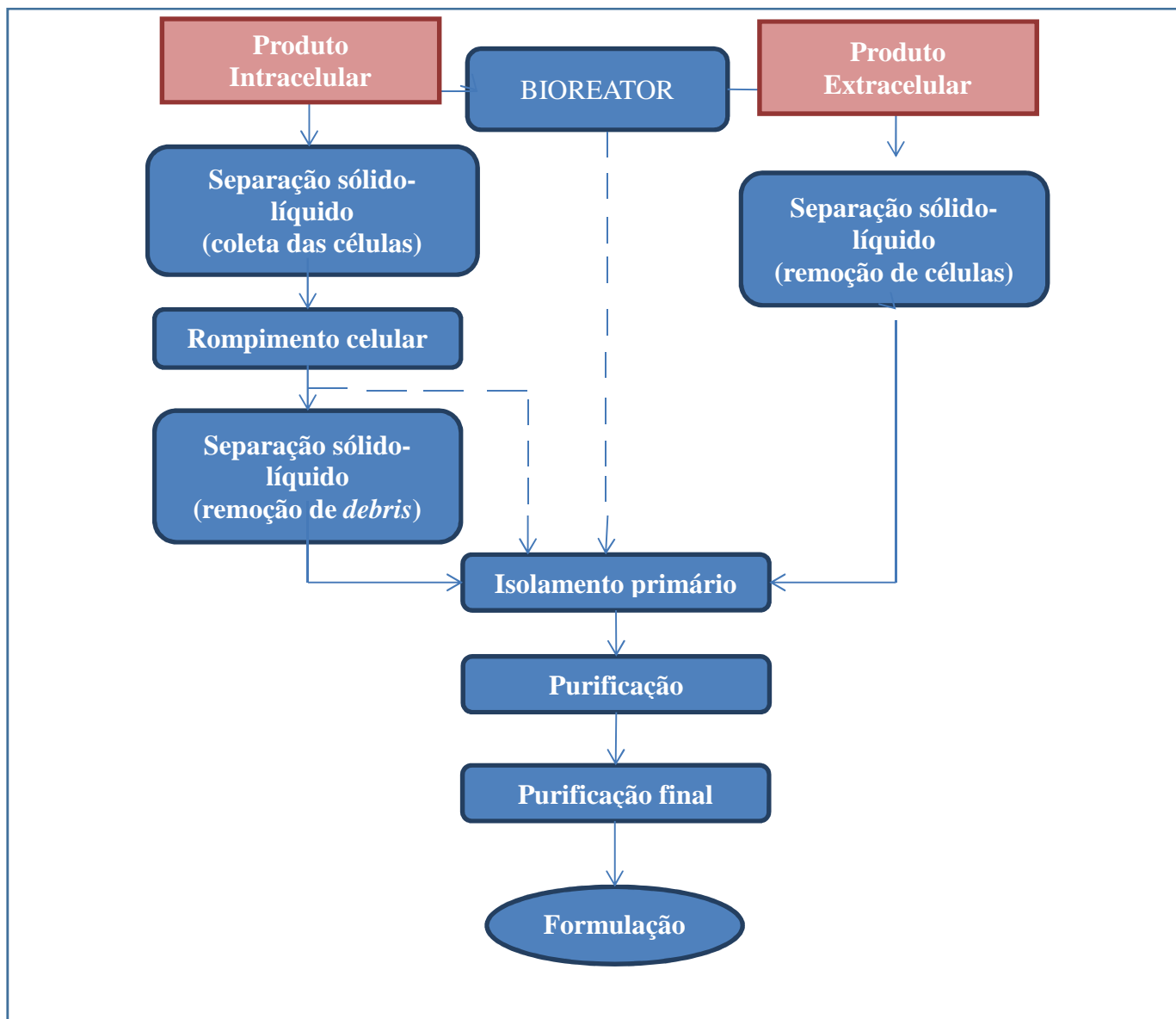


Figura 1.4: Esquema geral de recuperação e purificação de uma proteína terapêutica (Adaptado de Moraes et al, 2008).

1.7 - Controle de qualidade

O controle de qualidade compreende as técnicas e as atividades operacionais usadas para satisfazer as necessidades da qualidade (Bareta, 1994). É exigido em todas as indústrias para verificação da conformidade com os padrões estabelecidos. Qualquer falha no processo produtivo pode traduzir-se em risco para o paciente, podendo evoluir desde a ineficácia à toxicidade ou, eventualmente, à morte (Gomes et al, 2006).

Quando o produto em questão é de origem biotecnológica, a complexidade das metodologias e os parâmetros críticos que devem ser controlados aumentam

imensamente, pois é muito difícil caracterizar completamente a estrutura de um produto biotecnológico utilizando os métodos tradicionais como aqueles usados nos medicamentos de origem química.

Um aspecto importante, relacionado aos produtos derivados da tecnologia de ADN recombinante são os contaminantes, estes devem ser eliminados pelo processo de purificação, pois representam perigo a saúde. Como exemplo, temos as endotoxinas de origem bacteriana, e ADN celular. Além disso, mudanças mínimas no processo de fabricação podem levar a consequências graves, logo a metodologia utilizada deve ser capaz de identificar inclusive pequenas variações. Nesse contexto o conhecimento profundo do processo produtivo e os controles dos parâmetros de processo em cada etapa de manufatura tornam-se tão relevantes como aqueles para o controle e liberação do produto final (Etcheverrigaray et al, 2008).

A consistência lote a lote deve ser estabelecida, e o produto deve ser caracterizado desde a fase de desenvolvimento para determinação dos critérios analíticos. Ainda é durante esta fase que deve ser determinada a estabilidade do produto, assim como sua compatibilidade com o sistema de envase. Essa avaliação deve ainda ser realizada no produto intermediário e acabado dos lotes comerciais de forma sistemática. Tais estudos envolvem pesquisa exaustiva da estrutura, das propriedades físico-químicas e da atividade biológica da proteína, assim como de seus contaminantes (Jeffcoate et al, 1993).

De forma geral, a qualidade deve ser confirmada utilizando uma variedade de técnicas analíticas, que em seu conjunto permitam avaliar a pureza, a potência biológica, a estabilidade, a identidade da molécula obtida, e a consistência na produção, entre outras. As análises físico-químicas exploram as características próprias de uma proteína, porém com frequência só fornecem informação detalhada sobre uma única característica que está sendo avaliada. Para uma avaliação global é necessário usar uma combinação das análises realizadas durante o processo produtivo com aquelas estabelecidas na especificação do produto (Etcheverrigaray et al, 2008). Os métodos empregados dependerão do sistema de produção escolhidos. No quadro 1.5 estão apresentados os principais controles na fabricação de um produto biotecnológico.

MATERIAIS DE PARTIDA	ETAPA DE PRODUÇÃO	PARÂMETROS DE CONTROLE
	Caracterização da Célula Hospedeira	Origem, fenótipo, genótipo, aspectos morfológicos e velocidade de crescimento, histórico da linhagem celular e suas características gerais.
Banco de Células	Estabilidade, através de medidas de viabilidade e de preservação do vetor; Identidade celular, através de sua caracterização fenotípica; Ausência de potenciais agentes infecciosos ou oncogênicos, contaminantes, potencial de tumorigenicidade do banco celular, especialmente quando se tratar de células eucarióticas derivadas de mamíferos, caracterização e testes dos substratos do banco de células.	
PROCESSO DE PRODUÇÃO	Cultivos com Número Definido de Passagens	Concentração e viabilidade celular, concentração de nutrientes e metabólitos, concentração de produto. Características da célula hospedeira. Definição do número máximo de passagens. Descrição dos procedimentos e dos materiais empregados para a propagação das células. Determinação da sequência de nucleotídeos do inserto que codifica o produto, pelo menos uma vez depois do cultivo ser implantado em maior escala.
	Cultivos contínuos	Características fenotípicas e genotípicas da célula hospedeira. Integridade do gene, Sequência de nucleotídeos do inserto. Demonstração sobre as variações no rendimento em células e concentração de produto. Estabelecimento dos critérios para descarte de suspensões e para interromper as culturas quando se encontram fora da especificação.
	Purificação	Eliminação de impurezas, ácidos nucleicos, vírus e proteínas da célula hospedeira.
CONTROLE DO PRODUTO	Produto Acabado	Conteúdo Proteico, esterilidade, homogeneidade, atividade biológica, mapeamento peptídico, determinação de carboidratos, impurezas e contaminantes potenciais.

Quadro 1.5: Principais controles empregados na produção de Anticorpo Monoclonal (Adaptado de Etcheverrigaray et al, 2008).

As informações sobre os controles em processo, controle no Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA) e produto acabado colaboram para demonstrar o quanto o processo está sob controle. Sendo assim, são informações essenciais na construção do processo de registros de qualquer produto biotecnológico, principalmente no caso dos anticorpos monoclonais para uso terapêutico.

1.8 - Aplicações dos anticorpos monoclonais

Devido ao alto grau de especificidade dos anticorpos monoclonais, sua utilização na identificação de antígenos de interesse é muito ampla. Essas moléculas podem ser utilizadas tanto para ensaios qualitativos como para quantitativos e o campo de aplicação para tais ensaios é praticamente irrestrito (Sena e Goldman, 2001).

Os mAbs podem ser utilizados ainda na purificação de moléculas, pois quando fixados nas partículas de uma coluna de afinidade permitem separar moléculas de uma mistura que circule por ela. Outra utilização extremamente engenhosa está na separação de populações celulares em um aparelho denominado *cellsorter*. As células são marcadas com anticorpos ligados a uma molécula fluorescente; ao passar através de raios laser, adquirem cargas elétricas e são separadas mediante uma placa defletora do equipamento (Santos et al, 2006).

Em oncologia, uma nova geração de medicamentos está baseada na capacidade dos mAbs em reconhecer antígenos específicos de tumores e induzir uma resposta imune contra as células cancerosas. Além disso, os mAbs podem ser modificados de forma a atuarem como portadores de radioisótopos ou toxinas às células cancerosas, ampliando seu espectro de aplicação.

Ainda como aplicação terapêutica, os mAbs podem ser utilizados no tratamento de doenças imunológicas, inflamações crônicas como artrite reumatoide, para evitar a rejeição de órgãos transplantados ou mesmo no tratamento de doenças infecciosas.

No quadro 1.6 estão apresentadas as principais aplicações dos mAbs tanto na clínica como em diagnósticos.

Devido aos expressivos resultados positivos em relação ao uso dessas moléculas principalmente no tratamento de doenças como o câncer e doenças autoimunes, novos registros e estudos clínicos crescem consideravelmente a cada ano. Desde a primeira aprovação em 1994 até julho de 2015, um total de quarenta e sete mAbs para uso terapêutico foram aprovados nos Estados Unidos da América (EUA) e União Europeia (UE), onde 85% são destinados ao tratamento de câncer ou doença autoimunes. Existem ainda diversos estudos em andamento. Em julho de 2015, esse número alcançava sessenta e dois estudos clínicos em fase III, onde 75% desses estudos estão voltados para tratamento de câncer ou doenças autoimunes (Doig et al, 2015).

No quadro 1.7, estão apresentados os quantitativos de anticorpos monoclonais registrados e os estudos clínicos fase III em andamento na Europa e Estados Unidos considerando a indicação terapêutica.

O crescimento dos estudos e indicações clínicas associadas ao surgimento de novas tecnologias é um desafio a parte para ARs, que precisam estudar e revisar seus marcos buscando o equilíbrio na emissão requisitos regulatórios e acessibilidade a novos tratamentos promissores, algumas vezes com o custo mais baixo.

Aplicações	Exemplos
Diagnóstico	Sarampo, dengue 1, 2, 3 e 4, hepatite A, B e C, leptospirose, febre amarela, testes de gravidez.
Verificação de compatibilidade de tecidos e como imunossupressores.	Enxertos e transplantes (ex: rejeição aguda renal, rejeição de transplante de órgãos sólidos)
Tratamento de doenças autoimunes	Uso de anticorpos contra o fator de necrose tumoral alfa, a integrina $\alpha 4\beta 1$ e proteínas de superfície, lúpus, esclerose múltipla, psoríase, doença de Crohn e artrite reumatoide.
Tratamento de Câncer	Câncer de mama, câncer de cólon, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crônica de células B, leucemia mieloide aguda, linfomas não Hodgkin de células B, linfomas não Hodgkin folicular. Podem ainda ser conjugados a radioisótopos.
Tratamento de Doenças Infecciosas	A atividade antimicrobiana pode ser mediada através de mecanismos como: Inibição do ataque microbiano, aglutinação, neutralização de toxinas, ativação do sistema complemento e opsonização.

Quadro 1.6: Exemplos de diferentes aplicações de Anticorpos Monoclonais nas diversas áreas da Medicina (Adaptado de Aaron et al, 2010 e Santos et al, 2006).

Indicação Terapêutica	Nº de Produtos Aprovados nos Estados Unidos/Europa	Estudos Clínicos em andamento nos Estados Unidos/Europa
Alergia	1	5
Doenças Autoimune	21	25
Câncer	20	22
Doenças Cardiovasculares	0	2
Hematologia	1	1
Doenças Infecciosas	2	3
Doenças Neurológicas	0	2
Uso Oftalmológico	2	1
Uso Ortopédico	0	1

Quadro 1.7: Quantitativo de anticorpos monoclonais registrados e os estudos clínicos fase III em andamento na Europa e Estados Unidos considerando a indicação terapêutica (Adaptado de Doig al, 2015).

1.9 - Contexto regulatório

A complexidade para o estabelecimento de parâmetros de produção e controle de qualidade das moléculas de mAbs, bem como o estabelecimento de uma normatização que assegure o uso racional desses compostos pela população exige das ARs instrumentos mais abrangentes e eficientes.

Atualmente, mesmo as ARs que já possuem critérios bem definidos para o registro de mAbs para uso terapêutico, ainda possuem assuntos pendentes de discussão. Como exemplo temos a definição do “*International Non Proprietary Name (INN)*” que se trata de um sistema que tem como objetivo a padronização dos nomes de ingredientes farmacêuticos ativos independentemente se a molécula é de origem biológica ou química. Ainda sobre este assunto, em 2015 a OMS publicou uma proposta de Guia para que empresas e Organizações se manifestassem a respeito da definição de INN para ativos de origem biológica (WHO, 2015).

A necessidade de requerimentos torna-se mais crítica quando o medicamento em foco é um biossimilar. É essencial que uma empresa que vislumbre a solicitação de um registro sanitário de mAb detenha o conhecimento profundo da molécula considerando inclusive cada detalhe da etapa de desenvolvimento e produção. Nem sempre isso é possível nos casos dos biossimilares.

Biossimilares são medicamentos desenvolvidos para serem similares a um medicamento biológico existente. Esses medicamentos são diferentes dos genéricos, que são medicamentos com estruturas químicas mais simples e que são considerados idênticos aos respectivos medicamentos de referência, após comprovar equivalência através de estudos de biodisponibilidade e equivalência farmacêutica.

Os biossimilares têm como vantagens, a introdução mais rápida no mercado, preço competitivo em relação ao medicamento de referência e ampliação do acesso da população a medicamentos de alto custo. No entanto a dificuldade no estabelecimento de definições claras a respeito do assunto pelas ARs tem sido um desafio para o registro e comercialização desses produtos. A necessidade de uma regulamentação adequada vai além do registro do produto, ainda está em discussão o estabelecimento de regras para a dispensação desses medicamentos, como exemplo, temos a questão da intercambiabilidade.

É importante colocar ainda que o termo biossimilar utilizado neste trabalho não é harmonizado entre as principais ARs do mundo, este é tipicamente utilizado pela EMA. Em relação a ANVISA, a nomenclatura utilizada é “medicamento biológico não novo”, já o FDA se refere a esses produtos como “*Follow on biologic protein*” (Rader, 2007).

Os mAbs assim como os demais produtos biológicos, não são fabricados utilizando um conjunto padrão de materiais, mas sim são desenvolvidos a partir de sistemas biológicos únicos e células vivas, que são mantidas em um ambiente altamente controlado. A proteína produzida será influenciada pelas características individuais de cada célula, bem como pelo ambiente e nutrientes. Enfim, a fabricação exige dezenas de passos com inúmeras variáveis, como resultado, existe uma grande dificuldade para recriar um ingrediente farmacêutico ativo exatamente igual.

Na figura 1.5, é possível visualizar um exemplo de uma molécula original e respectivas moléculas biossimilares assim como as diferenças estruturais entre elas.

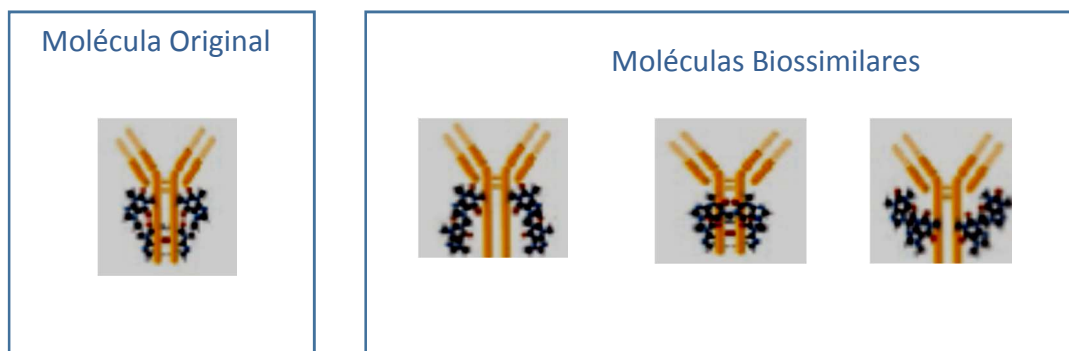


Figura 1.5: Diferenças estruturais entre molécula de mAb original e moléculas biossimilares (Amgen, 2016).

Outra importante discussão relativa a esse tema são as etapas de desenvolvimento, pois como a complexidade, nível de caracterização e conhecimento das proteínas são muito variáveis, é difícil padronizar os requerimentos clínicos necessários para garantir a eficácia e segurança aos pacientes. Em relação a ANVISA, está estabelecido que o registro de um medicamento biológico não novo, poderá seguir a via de comparabilidade. Neste caso a empresa solicitante deverá submeter todos os estudos e documentação técnica apresentada pelo detentor de registro do medicamento comparador desde o desenvolvimento do produto. Porém, o acesso a este tipo de informação normalmente só é possível nos casos de contratos de transferência de tecnologia, incorporação e fusão de empresas.

A seguir é apresentado um resumo de como as diversas ARs vem discutindo e regulando mAbs inovadores e biossimilares.

1.9.1 - Agência Europeia de Medicamentos

A Agência Europeia de Medicamentos - *European Medicines Agency* (EMA) tem se mostrado pioneira no estabelecimento de requerimentos em diversas áreas da saúde. De forma geral, a aprovação de medicamentos biotecnológicos é harmonizada em toda a União Europeia uma vez que o registro desses produtos é centralizado nesta Agência.

O Arcabouço regulatório para mAbs conta com Guias específicos para as etapas de caracterização e clínica. No que se refere aos biossimilares, a EMA é a autoridade que apresenta as discussões mais avançadas sobre o tema. Desde 2000 já contava com um Guia sobre comparabilidade de produtos Biológicos. Em 2010 publicou um Guia voltado para o desenvolvimento de anticorpos monoclonais biossimilares. Mais tarde outros guias

foram publicados, detalhando as questões pré-clínicas e clínicas. Em 2012, publicou o “*Guideline on Immunogenicity Assessment of Monoclonal Antibodies for in vivo clinical use*”. De acordo com esse documento, um diferencial para a concessão de registro de um anticorpo monoclonal biossimilar em relação a outros produtos, é que os solicitantes devem apresentar um Plano de Gerenciamento de Riscos para garantir não só a identificação e caracterização do risco como também o monitoramento e mitigação (EMA, 2012).

Outra característica da Agência Europeia está nos critérios de comparabilidade, uma vez que os estudos necessários dependerão da natureza do produto, disponibilidade de técnicas analíticas para detectar as potenciais diferenças e a relação entre os atributos de segurança e eficácia baseado na experiência clínica e não clínica.

No quadro 1.8, estão descritas as regulamentações mais recentes emitidas pela EMA aplicáveis a anticorpos monoclonais:

Guias publicados pela EMA aplicáveis a mAbs	Data de Vigor
<i>Guideline on similar biological medicinal products</i>	30 April 2015
<i>Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues</i>	01 July 2015
<i>Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues</i>	1 December 2014
<i>Guideline on similar biological medicinal products containing monoclonal antibodies – non-clinical and clinical issues</i>	1 December 2012
<i>Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use</i>	1 December 2012

Quadro 1.8: Guias publicados pela EMA aplicáveis as etapas de produção, controle e estudos clínicos e não clínicos de anticorpos monoclonais para uso terapêutico.

1.9.2 - Organização Mundial de Saúde (OMS)

Apesar da OMS não ser uma AR, ela trabalha fortemente na padronização de requerimentos a nível global e no fortalecimento de ARs de países em desenvolvimento. Sendo assim o grupo de especialistas da OMS, publicam com frequência guias atuais, que

passaram por um longo processo de discussão envolvendo a comunidade científica, representantes das indústrias e os especialistas da própria OMS.

A OMS foi uma das primeiras Organizações a estabelecer guias específicos para orientar fabricantes em relação aos requerimentos necessários para comprovação da qualidade de anticorpos monoclonais para uso terapêutico. Já em 1992, publicou o “*Guideline on assuring the quality of monoclonal antibody for human use*”, sendo este aplicável somente aos anticorpos de origem murina e focado nos requisitos de produção e controle de qualidade, no entanto, não apresentava orientações sobre como estudos de segurança e eficácia deveriam ser conduzidos (WHO, 1992).

À medida em que a tecnologia para obtenção dos anticorpos monoclonais foi avançando a OMS foi estabelecendo novos requisitos, e mais recentemente, em 2013, publicou o documento chamado “*Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology*”. O guia é completo, aplicável aos anticorpos monoclonais, engloba todas as fases produtivas, controle de qualidade, caracterização e estabelece como os estudos clínicos e pré-clínicos devem ser conduzidos. Além disso, o documento em questão foi e ainda é utilizado como referência para construção da regulamentação em diversos países do mundo (WHO, 2013).

A OMS, assim como a EMA, também vem trabalhando no estabelecimento de regras para biossimilares. Sendo assim, em 2009 publicou o documento “*Guidelines on evaluation of similar biotherapeutic products*”. O documento não é aplicável a vacinas, mas sim as proteínas terapêuticas incluindo os anticorpos monoclonais. O conteúdo do documento norteia os fabricantes em como realizar estudos de comparabilidade baseando-se nos atributos de qualidade. Ainda assim, é importante colocar que tal comparabilidade não isenta os fabricantes de realizarem estudos clínicos e pré-clínicos (WHO, 2009).

1.9.3 Conselho Internacional de Harmonização

O Conselho Internacional de Harmonização dos Requisitos Técnicos para o Registro de Produtos Farmacêuticos para Uso Humano (ICH) reúne as autoridades reguladoras da Europa, Japão e Estados Unidos e especialistas da indústria farmacêutica das três regiões para discutir científica e tecnicamente os aspectos para registro do produto farmacêutico. O objetivo do ICH é reduzir ou eliminar a necessidade de duplicar os

ensaios realizados, durante a pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos, recomendando maneiras de conseguir maior harmonização na interpretação e aplicação das diretrizes e requisitos para registro de produtos. Em dezembro de 2015, a ANVISA oficializou sua posição de Autoridade Regulatória observadora da iniciativa.

O ICH possui um conjunto de cinco guias aplicáveis a qualidade de produtos biotecnológicos e um destinado as questões de segurança, conforme apresentado no quadro 1.9. Apesar dos guias terem sido publicados na década de 90, ainda são uma referência para diversas ARs (ICH, 2016).

Guias publicados pelo ICH aplicáveis a produtos de origem biotecnológica
<i>Q5A - Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin</i>
<i>Q5B - Analysis of the Expression Construct in Cells Used for Production of r-DNA Derived Protein Products</i>
<i>Q5C - Stability Testing of Biotechnological/Biological Products</i>
<i>Q5D - Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products</i>
<i>Q5E - Comparability of Biotechnological/Biological Products Subject to Changes in their Manufacturing Process</i>
<i>S6 - Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals</i>

Quadro 1.9: Guias publicados pelo ICH aplicáveis qualidade e segurança de produtos de origem biotecnológica (ICH, 2016).

1.9.4 - Estados Unidos

Na década de 90, o Food and Drug Administration (FDA) publicou uma série de guias que determinava os requerimentos para registros de produtos biológicos obtidos a partir da tecnologia de ADN recombinante. Já nessa época alguns desses guias eram voltados exclusivamente para Anticorpos Monoclonais. O primeiro deles denominado “*Guidance for Industry for the submission of chemistry, manufacturing, and controls informations for a Therapeutic recombinant DNA-Derived product or a Monoclonal Antibody Product or in vivo use*” foi publicado em 1996. Apesar do documento não apresentar um nível grande de detalhamento, ele buscava cobrir todas as etapas produtivas dos medicamentos biotecnológicos para uso humano, percebe-se ainda ao longo do

documento, o foco para as metodologias de controle de qualidade, principalmente aquelas voltadas para caracterização (FDA, 1996).

Um ano depois, em fevereiro de 1997, o FDA publicou um novo documento - “Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use”. Neste caso o documento não tinha caráter mandatório, mas sim o objetivo de orientar fabricantes e outras instituições envolvidas no desenvolvimento de Anticorpos Monoclonais para uso terapêutico considerando as expectativas do FDA em relação a estes produtos. Este documento já é bastante completo e uma referência nos dias atuais (FDA, 1997).

No que se refere aos Anticorpos Monoclonais no cenário dos biossimilares, ou “Follow on biologic protein”, a Agência Americana junto as Associações das Indústrias farmacêuticas vêm discutindo o assunto de forma extensiva, vários eventos e seminários sobre o tema têm sido organizados buscando a participação e envolvimento da comunidade científica. Na Lei Federal de Alimentos, Medicamentos e Cosméticos, publicada em 2004 são apresentadas diretrizes legais e simplificadas para aprovação de moléculas biológicas pequenas e proteínas bem caracterizadas, tais como o hormônio do crescimento e insulina (Woodcock et al., 200). Entretanto, biofármacos com estrutura mais complexas ainda possuem itens em discussão. Atualmente existem dois caminhos regulatórios para esses produtos, podem ser aprovados como biossimilares ou intercambiáveis, no segundo caso é necessário a apresentação de estudos clínicos mais extensos e robustos (Sarpatwari e Kesselheim, 2015).

1.9.5 - Canadá

A AR do Canadá (Health Canadá) publicou em 2004 as diretrizes para preparação do pacote de registros para produtos derivados de tecnologia de ADN recombinante incluindo os Anticorpos Monoclonais, o documento contempla as regras gerais, englobando todas as etapas de produção, controle e também os dados clínicos necessários, sendo que o fabricante ao longo do documento é orientado se basear em outros guias, principalmente aqueles os Guias aplicáveis a produtos biotecnológicos publicados pelo ICH.

Em relação à questão da biossimilaridade, ou “*subsequent entry biologicals*” termo utilizado pela agência, depois de quase três anos em consulta pública e discussões com a comunidades científica e fabricantes, a *Health Canada*, publicou em março de

2010 o documento “*Guidance for Sponsors: Information and Submission Requirements for Subsequent Entry Biologics (SEBs)*” (Health Canada, 2010).

Em dezembro de 2015, este mesmo documento entrou em revisão e uma nova consulta pública foi iniciada, a nova versão tem como objetivo incorporar as experiências adquiridas nos últimos cinco anos pela *Health Canada*.

De acordo com o documento em revisão, para demonstrar similaridade, não é necessário que os atributos de qualidade sejam idênticos, mas sim altamente similares, sendo assim, o fabricante deve ter conhecimento suficiente para garantir que as pequenas diferenças não terão impacto adverso na segurança e eficácia do produto. Os dados não clínicos e clínicos deverão ser desenhados de forma a complementar o pacote de dados analíticos (Health Canada, 2015).

1.9.6 - Austrália

A Agência Sanitária Australiana (*Therapeutic Goods Administration - TGA*) adota na íntegra os guias publicados pela EMA para o registro dos Anticorpos Monoclonais para uso terapêutico, sendo este no contexto de um novo medicamento ou no contexto de um biossimilar (termo adotado pela agência). Como a EMA tem conceitos e guias bem definidos, podemos dizer que a Agência Australiana, propõe regras claras e consegue gerenciar sem muitas dificuldades a avaliação e aprovação desses produtos para disponibilização no mercado (Austrália, 2016).

1.9.7- Japão

A AR Japonesa (*Pharmaceuticals and Medical Devices Agency - PMDA*) é participante do Conselho Internacional de Harmonização (ICH), e como prática costuma internalizar os Guias e adotá-los como requerimentos mandatórios.

A agência possui ainda um guia geral para medicamentos biológicos, sendo que os Anticorpos Monoclonais para uso terapêutico contam com uma guia específico abrangendo todas as etapas do processo produtivo assim como controle e etapas clínicas, considerando sempre que os guias do ICH são usados como base para as definições dos critérios de qualidade e avaliação de segurança. No que se refere a questão da biossimilaridade, a agência possui critérios definidos para o registro de biossimilares desde 2009, no entanto o primeiro Anticorpo Monoclonal biossimilar (Infliximab) só foi aprovado pela agência em 2014 (Kishioka, 2015).

Assim como diversas outras agências, o Japão estimula que fabricantes procurem discutir os requisitos de registros com especialistas da agência antes da submissão (Krishnan et al, 2015).

1.9.8 - Índia

A “*Central Drugs Standard Control Organization*” (CDSCO), Autoridade Regulatória Nacional da Índia, publicou em 2008, uma série de guias para orientação das indústrias, sendo que um deles chamado “*Preparation of the Quality Information for Drug Submission for New Drug Approval: Biotechnological / Biological Products*” aplicável também a anticorpos monoclonais já nesta época orientava aos solicitantes em relação aos requisitos necessários para registro desses produtos. O guia é bastante completo e segue uma estrutura e conteúdo muito semelhantes aos guias da OMS (Índia, 2015).

No que se refere aos biossimilares, desde 2012, fabricantes na Índia contam com um guia específico para o registro desses produtos. O “*Guidelines on Similar Biologics*” publicado pelo CDSCO e pelo Departamento de Biotecnologia é aplicável a produtos biológicos similares que possuem proteínas bem caracterizadas como ingrediente farmacêutico ativo. Na ocasião o documento procurou estabelecer regras claras e detalhadas sobre todas as informações que devem ser apresentadas na solicitação de registro, tais informações incluem estudos clínicos e pré-clínicos comparativos, planos de farmacovigilância e os exercícios de comparabilidade que devem ser realizados. Percebe-se ainda a ênfase dada em relação aos métodos de controle de qualidade e caracterização, uma vez que o documento dedica um Anexo inteiro para discorrer sobre esse tema.

Em março de 2016, uma nova versão do documento foi emitida pela autoridade indiana, dentre as principais mudanças estão uma maior ênfase para o processo de *upstream* e a inclusão de um prazo de dois anos para realização de estudos de fase IV considerando pelo menos 200 pacientes, os dados deverão ser comparados com dados históricos do produto de referência, essa iniciativa tem como objetivo eliminar riscos residuais. Em relação aos estudos de comparabilidade, o documento estabelece que se o fabricante comprovar similaridade na fase pré-clínica, através de estudos de caracterização, farmacocinética e farmacodinâmica, a equivalência poderá ser demonstrada através de estudos de fase I, ficando o fabricante dispensado da realização de estudos de fase III (Índia, 2016).

1.9.9 - China

A “*China Food and Drug Administration (CFDA)*”, autoridade regulatória chinesa, conta com apenas um documento onde constam todas as orientações para registro de produtos. O documento entrou em vigor em 2007 e contempla tanto produtos de origem química como de origem biológica, além disso, não há diferenciação em relação ao tipo de produto (exemplo: vacinas, anticorpos monoclonais), todos são tratados da mesma forma. O documento é simples e com baixo nível de detalhamento, percebe-se ainda que a análise das amostras do produto é considerada um dos passos mais importantes no processo de registro (China, 2007). Em relação aos biossimilares, em fevereiro de 2015, o CFDA publicou o documento *Guidelines on Biosimilars: Research, Development and Evaluation*, o Guia utiliza como referência a Agência Européia (China, 2007).

1.9.10 - Argentina

Em outubro de 2011, a “*Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica*”(ANMAT) - Agência Regulatória Argentina publicou sua nova legislação para produtos biológicos, o documento cobre as etapas de fabricação, controle, segurança e eficácia e é aplicável a praticamente a todos os produtos biológicos, excetuando apenas as vacinas, que possuem regulamentação específica. Em junho de 2012, a agência publicou um novo documento, neste caso, aplicável apenas aos produtos obtidos por tecnologia de ADN recombinante. Trata-se de um documento simples que procura englobar as questões relacionadas a fabricação e controle do Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA) e produto acabado, no entanto as questões relacionadas à imunogenicidade assim como segurança e eficácia não são cobertas pelo documento (Argentina, 2012).

No que se refere aos biossimilares, este termo não é oficialmente reconhecido pela ANMAT. Para o registro de um produto biológico similar, é definido que este produto deve ser equivalente em termos de ingrediente farmacêutico ativo, formulação, apresentação farmacêutica, reações adversas, precauções, testes de dissolução entre outros aspectos a um produto já aprovado e comercializado na Argentina ou em países como a Áustria, Bélgica, Dinamarca, França, Holanda, Alemanha, Israel, Itália, Japão, Suíça, Suécia, Reino Unido ou Estados Unidos). Algumas diferenças são permitidas

como, por exemplo, a meia vida, embalagem primária e os ingredientes inativos (Argentina, 2011).

1.9.11 - Colômbia

Em setembro de 2014, o Ministério da Saúde e Proteção Social da Colômbia instituiu um novo Marco Regulatório para os produtos biológicos, através da publicação do Decreto n° 1782. O documento tem como objetivo estabelecer os requisitos sanitários e o procedimento para as avaliações farmacológicas e farmacêuticas dos medicamentos biológicos para o tramite do registro sanitário.

O Decreto apresenta três opções de rotas de registro, abaixo seguem as principais diferenças entre elas:

- Rota por expediente completo – Aplicada a medicamentos novos. Necessidade de apresentação de estudos pré-clínicos e clínicos com o medicamento objeto da avaliação.
- Rota por comparabilidade – Aplicada a medicamentos não novos, não suficientemente conhecidos e que apresentem moléculas complexas. Nesse caso são necessários estudos pré-clínicos e clínicos comparativos com o medicamento de referência.
- Rota abreviada de comparabilidade – Aplicada a medicamentos totalmente conhecidos e moléculas totalmente caracterizadas. Nesse caso não é necessário realizar todos os experimentos clínicos.

Assim como as informações físico-químicas e biológicas, o plano de gerenciamento de riscos é aplicável as três rotas. Neste caso, plano tem como objetivo permitir a otimização do perfil de efetividade e segurança (benefícios/eventos adversos) do tratamento na prática clínica.

Em relação ao detalhamento dos requisitos técnicos da Norma, a Autoridade utiliza os Guias da OMS como referência.

A Autoridade entende que há diferenças entre produtos biológicos e produtos biotecnológicos, considerando o maior grau de complexidade do segundo. Essa

diferenciação é feita não só na análise dos requisitos como também na publicação, onde os produtos biológicos apresentarão a sigla MB antes do número de registro enquanto os produtos biotecnológicos apresentarão a sigla MBT (Colômbia, 2014).

Na publicação do Decreto, o Ministério da Saúde se comprometeu ainda em publicar no período de um ano um guia para avaliação da imunogenicidade incluindo as proteínas terapêuticas (Colômbia, 2014).

1.9.12 - México

Em dezembro de 2014, a “*Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios*” (COFEPRIS), autoridade regulatória Mexicana, publicou uma norma buscando aprimorar a regulamentação para o registro de produtos biotecnológicos, o documento busca estabelecer diretrizes para avaliação técnica e científica das informações apresentadas para solicitação de registro. Na norma fica definido que as informações relativas aos medicamentos biotecnológicos novos deverão, previamente a solicitação de registro, ser apresentadas e estudadas por um Comitê de Moléculas Novas (CMN) o qual possui um Subcomitê de Avaliação de Produtos Biotecnológicos (SEPB), esse grupo de especialistas determinará se as informações são suficientes para que o registro seja pleiteado e o medicamento seja considerado como de referência. Na norma não fica definido quais são as informações técnicas que deverão ser apresentadas, mas sim que os requerimentos da OMS serão utilizados como referência (México, 2014).

Em relação as questões relacionadas aos biossimilares, até 2012, estes eram registrados como os medicamentos genéricos originados a partir de síntese química, ou seja, sem a exigência de qualquer estudo clínico ou pré-clínico. Devido a este fato, até esta data mais de 20 biossimilares foram registrados e por volta de 100 milhões de doses foram distribuídas e utilizadas pela população mexicana. Como não existia um sistema de farmacovigilância efetivo, não foi possível estabelecer a extensão das reações causadas pelo uso (Azevedo, et al, 2014).

Em 2012, novos critérios para aprovação de biossimilares entraram em vigor no México, o novo Guia abrange todos os medicamentos biológicos incluindo os Anticorpos Monoclonais, de acordo com a nova regra, fabricantes que desejam registrar um biossimilar independentemente da classe terapêuti deverão apresentar informações sobre produção, métodos de controle e estudos de segurança. Cabe ressaltar que a natureza e extensão dos estudos necessários para demonstrar comparabilidade não estão definidos,

o artigo determina apenas que estudos clínicos são obrigatórios e que os estudos *in vitro* podem ser requeridos para demonstrar a segurança, efetividade e a qualidade. Fabricantes são estimulados a buscar orientação da COFEPRIS durante o desenvolvimento do produto.

A Autoridade Mexicana possui algumas particularidades quando comparadas a outras agências, uma delas é que o fabricante poderá solicitar o registro de um biossimilar oito anos antes de patente expirar, no entanto o registro só é concedido após a expiração da patente. Outra questão que chama atenção, é que a Autoridade publicou em fevereiro de 2015 uma regulamentação para biossimilares que se encontravam em uma situação denominada de “biolimbo”, ou seja, aprovados conforme as antigas regras. Neste caso, fabricantes deverão apresentar dados complementares para comprovar a Biossimilaridade (México, 2015).

1.9.13 -Venezuela

O Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” (INHRR), Agência Regulatória Venezuelana, possui um arcabouço regulatório para registro de produtos biológicos onde vacinas, hemoderivados e produtos derivados de tecnologia de ADN recombinantes e anticorpos monoclonais contam com guias divididos por categorias e possuindo norma específica, conforme descrito abaixo:

- Registro sanitário de produtos ADN recombinantes, anticorpos monoclonais e terapêuticos – Categoria A1
Se enquadram nesta categoria produtos inovadores na Venezuela assim como produtos que contenham em sua formulação excipientes (adjuvantes, estabilizantes, preservativos, entre outros).
- Registro sanitário de produtos ADN recombinantes, anticorpos monoclonais e terapêuticos – Categoria A2
Enquadram-se nesta categoria produtos cujo princípio ativo ou combinação de princípios já se encontram registrados no país, mas a solicitação corresponde a um fabricante diferente do produto já aprovado.
- Registro sanitário de produtos ADN recombinantes, anticorpos monoclonais e terapêuticos – Categoria B1

Enquadram-se nesta categoria produto fabricado por um determinado fabricante, já registrado no país, que corresponda a uma nova forma farmacêutica, via de administração ou indicação em população pediátrica.

- Registro sanitário de produtos ADN recombinantes, anticorpos monoclonais e terapêuticos – Categoria B2

Enquadram-se nesta categoria produto fabricado por um determinado fabricante, já registrado no país, que corresponda apresentação com sistema de fechamento diferente.

Não há diferenças significativas entre a documentação técnica a ser apresentada nas categorias A1 e A2 em ambas há a necessidade de envio dos estudos pré-clínicos, clínicos e documentação de fabricação e controle, além disso, o solicitante é orientado a buscar informações nos Guias de qualidade de produtos biotecnológicos do ICH e o *Guidelines for assuring the quality of pharmaceutical and biological products prepared by recombinant DNA technology* publicado pela OMS.

Na categoria B1 não consta a necessidade de apresentação das informações técnicas de produção do ingrediente farmacêutico ativo conforme os guias internacionais, mas a apresentação de dados pré-clínicos e clínicos é obrigatória.

Já na categoria B2, as informações a serem apresentadas são mais simples e voltadas para as questões de controle e estabilidade do produto.

Em relação aos biossimilares, atualmente a Autoridade Venezuelana, não possui um marco regulatório para avaliação desses produtos, todos os produtos biológicos são analisados como novos, sendo assim a apresentação de dados clínicos e pré-clínicos é obrigatória.

É importante ressaltar que o INHRR vem buscando o estabelecimento de regras para este tema, sendo assim em 2012 colocou para consulta pública e discussão um Guia para licenciamento e farmacovigilância de produtos bioterapêuticos similares, no entanto, até o momento as novas regras não entraram em vigor (Venezuela, 2012).

1.9.14 - Cuba

O Centro para o Controle Estatal da Qualidade dos Medicamentos – *Centro para El Control Estatal de la calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Medicos* (CECMED), Autoridade Sanitária Cubana, estabeleceu em 2009 um novo marco

regulatório para registro de produtos através da publicação da Resolução Ministerial n°321. A regulamentação é aplicável tanto a produtos biológicos incluindo os anticorpos monoclonais como a produtos provenientes de síntese química, apesar da regulamentação não apresentar um nível grande de detalhamento, é colocada a necessidade realização de estudos clínicos e pré-clínicos (Cuba, 2009).

No que se refere aos biossimilares, em 2009, a regulamentação acima citada, já procurava estabelecer para os produtos biológicos a definição de conceitos para “*medicamentos conocidos*” porém somente em 2011, o CECMED publicou o documento denominado “*Requisitos para el registro de productos biológicos conocidos*”, o qual é aplicável aos produtos fabricados a partir da tecnologia de ADN recombinante e Anticorpos Monoclonais, onde para a concessão do registro sanitário é necessário além das informações técnicas e de controle, a realização de estudos comparativos pré-clínicos e clínicos.

A Autoridade Cubana utilizou os Guias da OMS como referência e coloca os Guias de qualidade e segurança de produtos biotecnológicos do ICH como uma opção de consulta (Cuba, 2011).

1.9.15 - Brasil

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) foi criada em 1999 através da Lei n° 9782, até então o controle sanitário de medicamentos, incluindo os biológicos era realizado pelo Ministério da Saúde, através do Sistema de Vigilância Sanitária, utilizando os mesmos critérios para as diferentes classes de medicamentos (Lucchese, 2001).

Só em 2002, foi estabelecido o primeiro marco normativo para produtos biológicos através da RDC n°80, essa regulamentação definiu produto biológico como aquele que “contém molécula com atividade biológica conhecida”, e produto biológico novo, como aquele que “contém molécula com atividade biológica nova e tem proteção patentária”. Os requisitos de produção e controle descritos na RDC n°80/2002 eram muito simples e excepcionalmente, o solicitante do Registro de Produto Biológico poderia requerer que os estudos clínicos (fases II e III) fossem substituídos por outros documentos comprobatórios de sua segurança e eficácia clínica (Brasil, 2002).

A RDC n°80/2002 separou os produtos biológicos em três grupos conforme o período de solicitação do registro, sendo assim, os produtos que estavam em processo

análise na ocasião da publicação da RDC teriam um ano para se adequarem, os já registrados, receberam um prazo de dois anos para atendimento as novas exigências, já as novas solicitações deveriam atender o novo formato proposto imediatamente na solicitação do registro (Brasil, 2002).

Em 2005, um novo marco para registro de medicamentos biológicos foi estabelecido através da RDC nº315, entre as principais modificações em relação a regulamentação anterior estavam a descrição das etapas do processo de fabricação, validação da cadeia de transporte e estudos clínicos de não inferioridade para os medicamentos biológicos não considerados novos (Brasil, 2005). Apesar dos avanços propostos na nova regulamentação sanitária para produtos biológicos, a referida RDC não previu procedimentos específicos para as diferentes categorias de produtos biológicos, sendo este um alvo de crítica por parte dos produtores, que no momento de preparar seu processo de registro encontrava dificuldades em relação às informações que deveriam ser apresentadas (Delduque, MC, 2009). Em 2010, a ANVISA publicou a RDC nº55 instituindo um novo marco regulatório, e também uma nova definição para medicamentos biológicos novos e medicamentos biológicos:

“Medicamento Biológico Novo - Medicamento Biológico que contém molécula com atividade biológica conhecida, ainda não registrada no Brasil e que tenha passado por todas as etapas de fabricação (formulação, envase, liofilização, rotulagem, embalagem, armazenamento, controle de qualidade e liberação do lote de medicamento biológico novo para uso) ”.

“Medicamento Biológico - Medicamento Biológico que contém molécula com atividade biológica conhecida, já registrada no Brasil e que tenha passado por todas as etapas de fabricação (formulação, envase, liofilização, rotulagem, embalagem”, armazenamento, controle de qualidade e liberação do lote de produto biológico para uso). (Brasil, 2010).

Através da nova regulamentação proposta, a ANVISA buscou uma solução para os biossimilares, uma vez que alinhada ao posicionamento de agências como a WHO, EMA e *Health Canadá*, estabeleceu duas vias para o registro de produtos biológicos não novos: a via de desenvolvimento individual e a via de desenvolvimento por comparabilidade. Os medicamentos classificados como novos sempre utilizarão a via individual. As vias regulatórias estão representadas na figura 1.6 (Brasil, 2010).

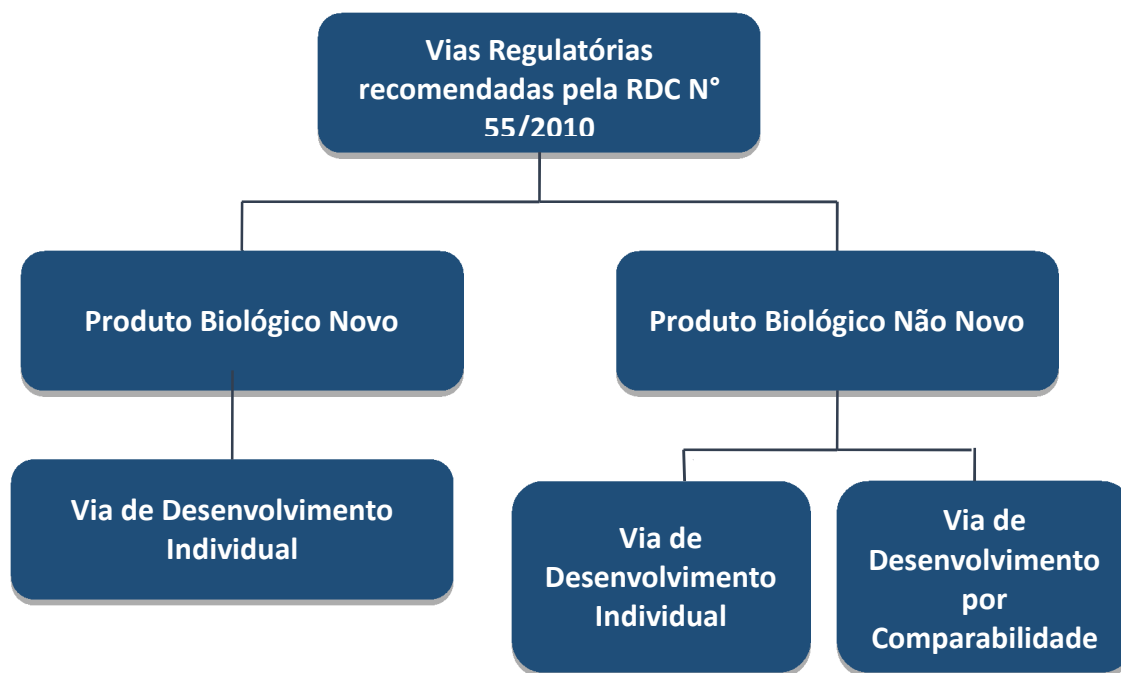


Figura. 1.6: Representação das vias regulatórias estabelecidas pela RDC n°55/2010 (Adaptado de Brasil, 2010).

Abaixo segue uma breve descrição via de desenvolvimento individual e a via de desenvolvimento por comparabilidade. As principais diferenças entre as duas vias podem ser visualizadas no Quadro 1.10.

- Via de desenvolvimento individual: via utilizada para o registro de produto biológico não novo ou produto biológico novo, onde o solicitante deverá apresentar um dossiê completo incluindo todos os dados de desenvolvimento, controle de qualidade, dados clínicos e não clínicos. No caso de Produtos biológicos não novos, estão previstos a redução de estudos não clínicos e clínicos conforme o nível de complexidade da molécula, caracterização estrutural, caracterização do grau de impureza, mecanismo de ação, potencial de toxicidade e índice terapêutico. Os estudos clínicos fases I e II não precisam ser comparativos, já os estudos de fase III são sempre obrigatórios e devem ser comparativos (Brasil, 2010).
- Via de desenvolvimento por comparabilidade: via utilizada para o registro de produto biológico não novo, neste caso é realizado o exercício de comparabilidade dos parâmetros de qualidade, segurança e eficácia do produto objeto do registro e o produto inovador. Produtos registrados por esta via podem extrapolar dados de segurança e eficácia. (Brasil, 2010).

Registro de Produtos Biológicos RDC n° 55/2010	Produtos Biológicos Novos	Produtos Biológicos Não Novos	
	Individual	Comparabilidade	Individual
Produção e Controle de Qualidade	Necessários	Comparativos, incluindo relatório de comparabilidade com informações para prever se as diferenças detectadas nos atributos de qualidade resultam em impactos adversos na segurança e eficácia	Deverão atender aos padrões de qualidade já estabelecidos para o produto que se pretende registrar
Estudos Pré-Clínicos	Necessários	Necessários e Comparativos. Desenhados para detectar diferenças significativas entre o produto biológico e o produto biológico comparador.	Poderão ser reduzidos, conforme a complexidade da molécula, e grau de caracterização
Estudos Clínicos Fase I e II	Necessários	Comparativos	Quando necessários podem não ser comparativos
Estudos Clínicos Fase III	Necessários	Comparativos	Comparativos (não-inferioridade, equivalência clínica ou superioridade) em relação ao produto biológico novo. Exceção: hemoderivados, vacinas e produtos biológicos com indicação oncológica
Estudos de Imunogenicidade	Necessário	Comparativos	Necessário
Comparador	Não aplicável	Mesmo comparador deve ser utilizado em todas as fases	Não especificado
Plano de Farmacovigilância e de minimização de riscos	Necessário	Necessário	Necessário
Extrapolção de Indicações	Não aplicável	Possível	Não é possível

Quadro 1.10: Quadro comparativo entre as vias regulatórias individual e por comparabilidade para registro de produtos biológicos e produtos biológicos novos (Adaptado de Brasil, 2010).

Como pode ser visto no quadro 1.10, independente da via escolhida, estudos de imunogenicidade, plano de farmacovigilância e plano de minimização de riscos devem sempre ser apresentados. Outra inovação apresentada pela nova RDC em relação as anteriores, foram as recomendações específicas aos diferentes tipos de medicamentos biológicos, sendo assim, vacinas, hemoderivados e produtos de origem biotecnológicas receberam requerimentos diferenciados. Onde para produtos biotecnológicos, entre outros itens, o fabricante deverá apresentar informações sobre o banco de células mestre e de trabalho e a caracterização do ingrediente farmacêutico ativo e do produto acabado.

Cabe ressaltar que apesar de ter sido formalizada a necessidade de apresentação de informações relativas ao banco de células, falta a definição específica a respeito das diferenças de requisitos entre bancos formados a partir de células eucarióticas e bancos formados a partir de células procarióticas, neste caso a Resolução se concentrou apenas no primeiro, sendo essa mais uma lacuna observada na RDC n° 55/2010.

Podemos dizer que a RDC n° 55/2010 foi um avanço em termos de regulamentação e colocou o Brasil alinhado as práticas regulatórias das principais agências do mundo, no entanto, os procedimentos e métodos para cumprimento dos requisitos expostos na legislação ainda são uma lacuna, uma vez que não há explicitação daquilo que é exigido. Tal fato contribui para que a documentação submetida não atenda as expectativas da AR, a qual emite uma exigência ao fabricante solicitando esclarecimentos ou complementação de dados, o que gera atraso na publicação do registro sanitário e conseqüentemente na disponibilização do produto no mercado. É possível perceber que a agência vem buscando preencher algumas lacunas com a publicação de Guias específicos, porém, desde a publicação da Resolução até o momento, temos apenas dois guias publicados voltados para produtos, onde são fornecidas informações complementares àquelas colocadas na RDC n° 55/2010:

- Guia para Realização de Estudos não Clínicos e Clínicos para Registro de Heparinas
- Guia para Realização de Estudos não Clínicos e Clínicos para registro de alfainterferona (interferon alfa)

Outro avanço na regulamentação de medicamentos biológicos foi a RDC n° 49/2011 que orientou fabricantes sobre as alterações pós-registro, até então os tais requerimentos

eram tratados dentro da mesma regulamentação destinada a registro de produtos biológicos. A RDC nº 49/2011 categorizou as alterações em três níveis conforme a complexidade, onde as alterações de nível 1 não precisam de anuência prévia da ANVISA para implementação, já as de níveis 2 e 3, somente poderão ser implementadas após a aprovação da agência (Brasil, 2011a).

Além da classificação por níveis de complexidade, a RDC para alterações pós-registro trouxe ainda outra inovação, o conceito de mudanças múltiplas concomitantes e mudanças múltiplas paralelas. As mudanças múltiplas concomitantes são as alterações resultantes de uma mudança principal, e que quando autorizadas podem ser efetivadas sem a necessidade de novo protocolo. As mudanças múltiplas paralelas as alterações pós-registro relacionadas de forma direta, nesse caso, devem ser submetidas de forma individual (Brasil, 2011).

Como pode ser visto, a ANVISA vem concentrando esforços no estabelecimento de critérios para produtos biológicos de forma a garantir a segurança dos medicamentos disponibilizados para a população, no entanto a publicação de guias específicos ainda são uma questão que precisa ser trabalhada pela agência. Os anticorpos monoclonais são moléculas altamente complexas, de alto peso molecular e que possuem um esquema posológico com concentrações muito maiores que as vacinas e muitos biofármacos. Além disso, esses medicamentos em sua maior parte são voltados para o tratamento de doenças autoimunes e câncer, onde o indivíduo que utilizará o medicamento já apresenta a saúde debilitada e o sistema imunológico comprometido, considerando que existem casos conhecidos em que a utilização de anticorpos monoclonais pode levar a reações adversas graves ou resposta imune debilitada, essas moléculas devem ser cuidadosamente avaliadas antes da sua disponibilização no mercado (EMA, 2012). Na figura 1.7 é possível visualizar a diferença de complexidade entre dois produtos biológicos, um hormônio e um Anticorpo Monoclonal.

As iniciativas para o desenvolvimento da indústria biotecnológica no país, o término de patente de diversos produtos e a posição de Bio-Manguinhos como protagonista no mercado de proteínas terapêuticas, traz a necessidade do conhecimento do contexto regulatório global para avaliação do registro de anticorpos monoclonais para uso terapêutico. Nesse sentido, o conhecimento de requerimentos específicos aplicados por agências reconhecidas e que possuem um processo de construção de marco regulatório bem estabelecido para o registro desses produtos é extremamente importante.

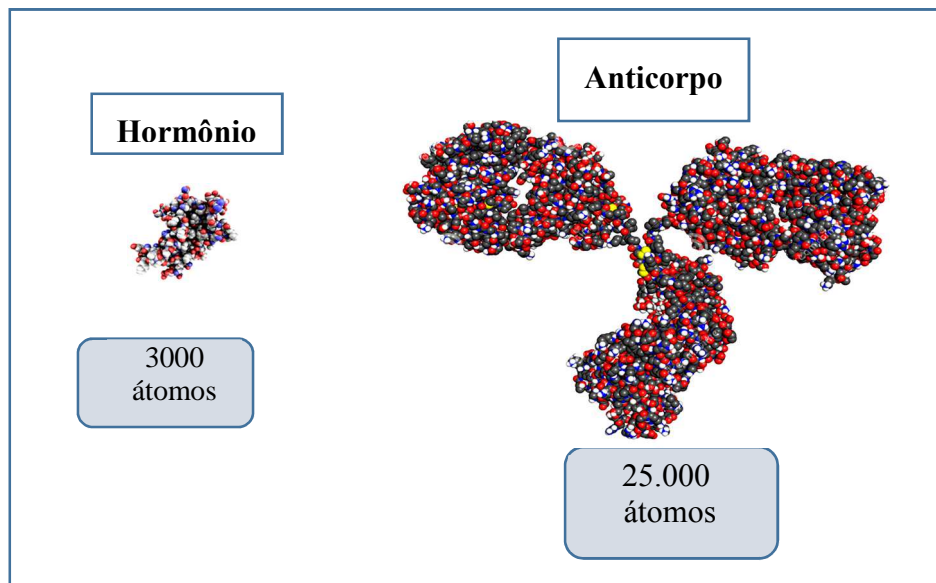


Figura 1.7: Diferença de Complexidade entre uma molécula sintética, um hormônio e um anticorpo monoclonal (Adaptado de Abraão, 2015).

Apesar dos esforços da ANVISA, e do considerável avanço na regulamentação de produtos biológicos, ainda existe uma lacuna em relação a publicação de guias específicos que orientem os fabricantes sobre procedimentos e métodos para cumprimento dos requisitos exigidos na legislação, o que contribui para que registro de moléculas complexas como os anticorpos monoclonais sejam analisadas caso a caso.

Os anticorpos monoclonais são moléculas extremamente complexas, cujo processo de fabricação possui inúmeras variáveis. No que se refere a seu uso como agente terapêutico, pequenas alterações na fabricação podem levar a consequências clínicas graves, a avaliação do produto somente através das análises de controle de qualidade torna-se insuficiente, é preciso um alto nível de conhecimento do processo que deve ser refletido na construção das informações que serão apresentadas durante a solicitação de registro sanitário.

Diante do exposto, esse trabalho tem como finalidade avaliar as agências que possuem um marco regulatório para registro de anticorpos monoclonais bem estabelecido e considerado como referência, e sistematizar essas informações de forma a alcançar um conjunto de parâmetros de produção e controle que possam colaborar com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária em relação aos procedimentos e métodos para cumprimento dos requisitos regulatórios propostos na atual RDC n°55/2010 e com Bio-Manguinhos no que se refere a obtenção do conhecimento sobre requisitos técnicos específicos e na antecipação do marco regulatório.

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é avaliar os requisitos de produção e controle para o registro sanitário de anticorpos monoclonais para uso terapêutico aplicados pelas principais Agências Internacionais e sistematizar essas informações para basear a construção dos requerimentos técnicos específicos a serem apresentados no registro sanitário dessas moléculas junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

2.2 - Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- a) Identificar os requisitos de produção e controle para registro de anticorpos monoclonais para uso terapêutico adotado pelas principais Agências Regulatórias de referência.
- b) Utilizar a ferramenta de qualidade Diagrama de Ishikawa para sistematizar os principais aspectos de produção e controle adotados pelas agências de referência
- c) Propor um conjunto de requisitos de produção e controle necessários para a construção do processo de registro sanitário de anticorpos monoclonais no âmbito nacional.
- d) Apoiar Bio-Manguinhos nas discussões e na antecipação no marco regulatório para registro de anticorpos monoclonais tanto no contexto de um produto inovador como no contexto de um biosimilar.

3 - METODOLOGIA

3.1 - Metodologia de estudo de caso

Os métodos qualitativos têm sido fortemente utilizados nas ciências sociais e, mais recentemente, em outras áreas. Eles possuem características que as diferenciam dos tradicionais, entre elas, destacam-se a importância do contexto do grupo ou organização pesquisada e a proximidade do pesquisador em relação aos fenômenos estudados (Yin, 2009). Entre os métodos qualitativos podemos citar a pesquisa-ação e o estudo de caso, neste trabalho será utilizada a método estudo de caso.

Segundo Yin, o estudo de caso documenta e analisa a atividade de uma organização ou de um pequeno grupo dentro dela. É uma investigação de fenômeno contemporâneo dentro de seu contexto especialmente quando os limites entre o fenômeno e o contexto não estão claramente definidos.

Neste caso, o contexto também é objeto de investigação, tanto quanto o fenômeno estudado. Uma importante questão, é que o estudo de caso se beneficia do desenvolvimento prévio de proposições teóricas. Yin observa que comumente há na investigação de estudo de caso uma situação tecnicamente única: muito mais variáveis de interesse do que pontos de dados. Necessitando assim se basear em várias fontes de evidências, com os dados convergindo na investigação.

Através do estudo de caso é possível descrever e avaliar situações quando as questões de pesquisa são do tipo “como” e “por que”, em que o pesquisador não tem controle sobre o evento e busca ampliar seu conhecimento acerca de determinado tema. Para o entendimento do fenômeno e construção do estudo, é importante que diversas fontes de evidências sejam utilizadas, como por exemplo: documentos (material escrito, desde memorandos até relatórios formais), arquivos de registros (gráficos da organização, registros financeiros, pessoais ou de serviços), entrevistas (abertas ou focadas), observação direta, observação de participantes e equipamentos físicos (mecanismos e ferramentas) (Pozzebon e Freitas, 1998).

Apesar de não ser um método rígido no que se refere às etapas a serem seguidas, para a condução da pesquisa é necessário definir uma unidade de análise do estudo, estabelecer uma estratégia de coleta de dados, e por fim descrever de forma clara as respostas às questões do estudo.

3.1.1 – Unidade de Análise do Estudo

Segundo Yin, a definição da unidade de análise e, portanto, do caso está relacionada a maneira como as questões iniciais da pesquisa foram definidas. Sendo assim, conforme o referencial teórico previamente descrito, a unidade de análise deste trabalho é o contexto regulatório para registro sanitário de anticorpos monoclonais para uso terapêuticos.

3.1.2 – Coleta de dados

O estudo da unidade de análise neste trabalho foi basicamente exploratório, buscando compreender os diferentes requisitos para o registro de mAbs para uso terapêutico praticados pelas principais Agências Reguladoras do mundo.

No estudo de caso além da observação do fenômeno, é importante consultar uma ou mais bases de dados robustas e abrangentes, de forma que seja possível checar e confirmar as informações.

Para este estudo, a coleta de dados foi realizada através das seguintes etapas:

Etapa 1: Busca na base de dados de Inteligência regulatória Cortellis – Thomson Reuters

A base de dados Thomson Reuters, módulo de inteligência regulatória Cortellis oferece como possibilidade o rastreamento dos requerimentos sanitários aplicados em 65 países, além de mapear agências com influência internacional como a EMA, ICH e a OMS conforme apresentado no quadro 3.1.

A busca foi realizada utilizando a palavra-chave "monoclonal antibody", e filtros específicos de forma a chegar aos documentos aplicáveis ao registro sanitário de mAbs nos diversos países de abrangência da base de dados. A base dispõe de sete filtros principais: idioma, categoria, tipo, versão, status, data e data da última mudança. Os filtros principais estão representados na Figura 3.1.

Países cobertos pela pesquisa - Base Cortellis - Módulo Inteligência Regulatória			
• Argentina	• França	• Malásia	• Eslovênia
• Austrália	• Alemanha	• Malta	• África do Sul
• Áustria	• Grécia	• México	• Coreia do Sul
• Bélgica	• Hong Kong	• Holanda	• Espanha
• Brasil	• Hungria	• Nova Zelândia	• Suécia
• Bulgária	• Islândia	• Noruega	• Suíça
• Canadá	• Índia	• Peru	• Taiwan
• Chile	• Indonésia	• Filipinas	• Tailândia
• China	• Irlanda	• Polônia	• Tunísia
• Colômbia	• Israel	• Portugal	• Turquia
• Croácia	• Itália	• Romênia	• Ucrânia
• Chipre	• Japão	• Rússia	• Emirados Árabes
• República Checa	• Letônia	• Arábia Saudita	• Reino Unido
• Dinamarca	• Líbano	• Servia	• Estados Unidos
• Egito	• Lituânia	• Singapura	• Venezuela
• Estônia	• Luxemburgo	• Eslováquia	• Vietnã
• Finlândia	• Cuba*	• Internacional**	

Quadro 3.1: Países cobertos pela base de dados Thomson Reuter Cortellis - Módulo Inteligência Regulatória. *A agência cubana CECMED não é coberta pela Base Cortellis - Módulo Inteligência Regulatória, no entanto pelo seu reconhecido histórico no estabelecimento na construção de Marcos Regulatórios, foi incluída neste estudo. **Considera as Agências Internacionais OMS, EMA e o ICH

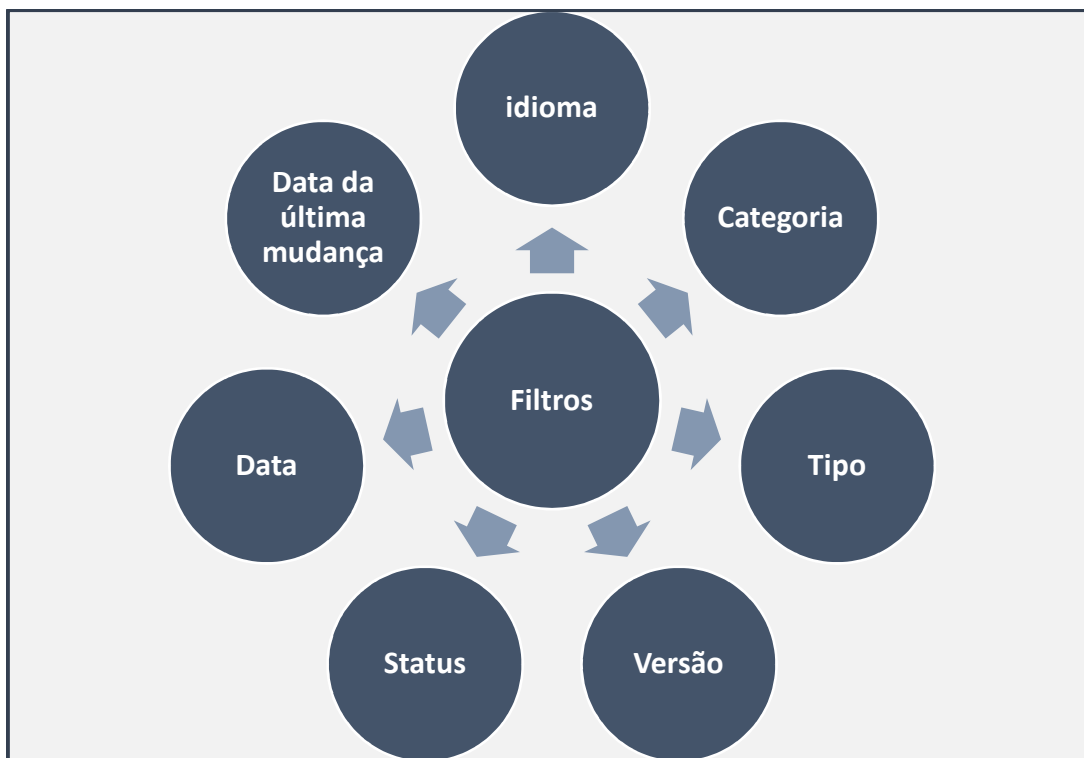


Figura 3.1: Opções de filtros disponíveis na base Thomson Reuter Cortellis - Módulo Inteligência Regulatória para a busca de documentos regulatórios.

Neste trabalho foram aplicados os filtros: Categoria, Tipo, Versão e Status, conforme detalhado no Quadro 3.2:

Categoria	Tipo	Status	Versão
Documentos de Referência, Relatórios de Inteligência Regulatória e Resumos Regulatórios	Guias, Relatórios Técnicos, Decretos, Leis, Diretivas e Regulação	Válido	Final

Quadro 3.2: Filtros aplicados no módulo Cortellis de Inteligência Regulatória da base de dados Thomson Reuters, utilizando a palavra-chave "monoclonal antibod".

Etapa 2: Análise dos resultados dos requerimentos regulatórios apontados pela base de dados

Os documentos apontados na busca, são apresentados juntamente aos seus resumos. Sendo assim, foram realizados a avaliação de cada resumo e sua aplicabilidade ao tema deste trabalho. Documentos relacionados a materiais de embalagens, relatórios de farmacovigilância não foram considerados.

Etapa 3: Busca dos documentos completos nos sítios eletrônicos das Agências Regulatórias ou Ministério da Saúde.

Considerando os resultados do rastreamento dos países que possuem algum tipo de requerimento para anticorpo monoclonal para uso terapêutico, foi então realizada uma busca cuidadosa dos documentos completos através dos sítios eletrônicos de cada AR ou Ministério da Saúde.

Na busca foram consideradas também as legislações aplicáveis a Biossimilares e destinadas a proteínas terapêuticas e produtos de origem biotecnológica.

Nos documentos avaliados, foi realizada uma análise em relação às regulamentações que estão sendo utilizadas como referência para a construção do Marco Regulatório dos países que participaram da pesquisa, assim como aquelas consideradas mais robustas e completas.

3.1.3 - Diagrama de Ishikawa

O Diagrama de Ishikawa, também conhecido como espinha de peixe é uma ferramenta utilizada para a análise de problemas simples e complexos.

O Diagrama de Ishikawa mostra a relação entre fatores que impactam na qualidade de um determinado item ou processo e as respectivas causas deste impacto (Sakurada, 2001).

O método permite uma exploração sistemática dos diversos aspectos do problema produzindo um conjunto significativo de informações sendo apresentado de forma simples de compreender.

Existem diversas vantagens no uso de uma ferramenta formal de Ishikawa, como por exemplo:

- a) A montagem do diagrama é educativa, uma vez que é necessário um esforço de hierarquização das causas identificadas e agregação em grupos.
- b) Exige uma abordagem integrada do foco do trabalho.
- c) Identifica a necessidade de dados, para efetivamente comprovar a procedência ou improcedência das diversas possíveis causas identificadas.
- d) O seu uso é genérico, sendo aplicável a problemas das mais diversas naturezas.

Originalmente, o diagrama de Ishikawa considera que os problemas podem ser classificados a partir de seis diferentes tipos de causas que são: método, máquina, medida, meio ambiente, mão de obra e material. No entanto, nem sempre é aplicável a utilização de todos os tipos de causa. Da mesma forma, o diagrama poderá ser adaptado caso o problema analisado seja mais complexo e haja a necessidade de estabelecer novas causas para análise.

Neste trabalho, o desenho do Diagrama de Ishikawa teve como objetivo identificar e sistematizar os principais parâmetros de produção e controle apresentados nos Guias publicados por ARs que apresentam um marco regulatório robusto para anticorpos monoclonais para uso terapêutico.

Para isso o problema central foi identificado como Produção e controle de dos mAbs para Uso Terapêutico e as causas foram adaptadas para os parâmetros Vetor de Expressão, Célula Hospedeira, Sistema de Banco de Células, Meio de Cultura e outros materiais e Processo Produtivo de forma a cobrir as principais etapas de fabricação de um anticorpo monoclonal para uso terapêutico conforme representado da figura 3.2.

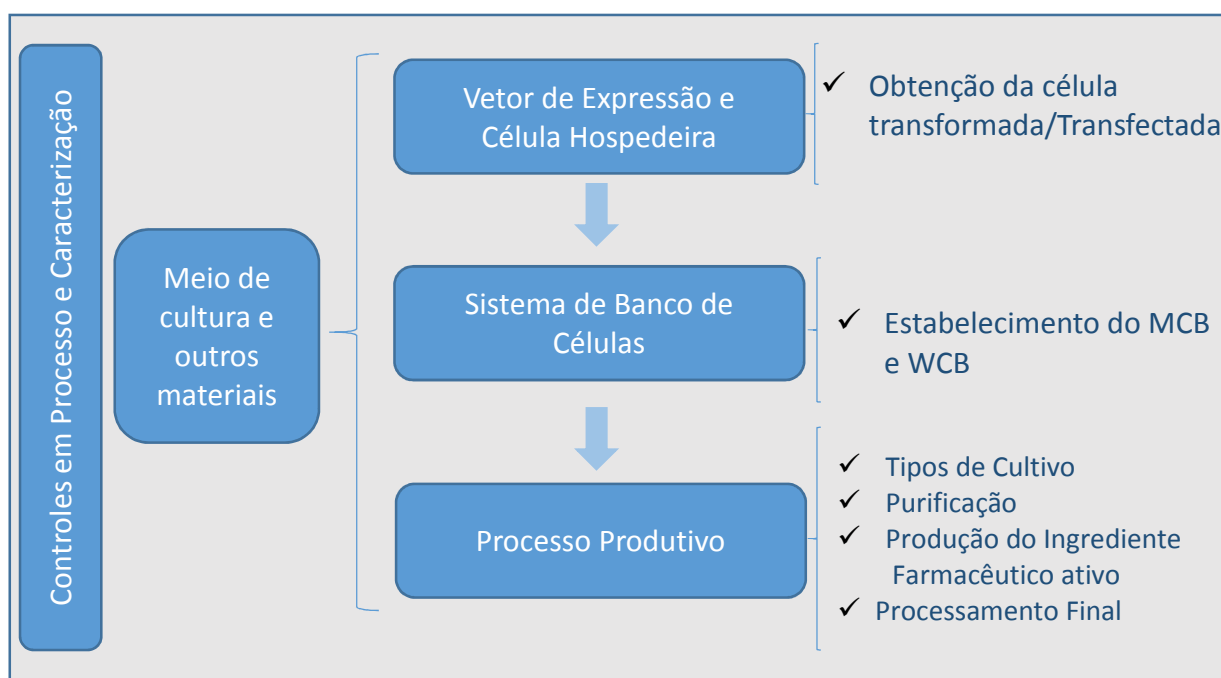


Figura 3.2: Representação das principais etapas produtivas de anticorpos monoclonais para uso terapêuticos que farão parte do Diagrama de Ishikawa.

É importante colocar que a elaboração do Diagrama de Ishikawa requer algumas etapas:

✓ **Etapa 1:** Definição do problema – Deve-se determinar o problema que será analisado no diagrama, assim como o objetivo que se deseja alcançar com ele. Neste caso, o “problema” foi definido como Produção e Controle dos anticorpos monoclonais para uso terapêutico.

✓ **Etapa 2:** Estruturação do diagrama – O executor do diagrama deve juntar todas as informações necessárias relativas ao problema em questão.

Foram levantadas regulamentações sobre anticorpos monoclonais para uso terapêuticos publicadas por ARs com reconhecida expressão e utilizadas como referência na construção do marco regulatório de diversas agências do mundo.

✓ **Etapa 3:** Agrupamento das informações e classificação dos parâmetros – As informações foram agrupadas conforme sua relação ou impacto nos parâmetros selecionados, neste caso, Vetor de Expressão, Célula Hospedeira, Sistema de Banco de Células, Meio de Cultura e outros materiais, Processo Produtivo e Caracterização.

✓ **Etapa 4:** Conclusão do diagrama – O diagrama é desenhado, considerando as causas e realizando o agrupamento conforme as respectivas categorias. As subcausas também devem ser consideradas.

Neste trabalho, o diagrama de Ishikawa foi desenhado agrupando e correlacionado os parâmetros de produção e controle que possuem impacto na qualidade do anticorpo monoclonal e os sub-parâmetros que possuem algum tipo de influência nestes últimos.

3.1.4 – Proposta de requisitos de produção e controle para registro sanitário de anticorpos monoclonais

Após a conclusão da etapa 4, a partir das informações obtidas no diagrama de Ishikawa, foi elaborada uma proposta com os requisitos regulatórios categorizados através dos parâmetros pré-estabelecidos vetor de expressão e célula hospedeira, sistema de banco de células, meio de cultura e outros materiais e processo produtivo.

O conjunto de requisitos encontrados foi comparado àqueles estabelecidos pela atual RDC nº55/2010.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Identificação das regulamentações utilizadas como referência para registro anticorpos monoclonais para uso terapêutico

A busca realizada através da base de dados Thomson Reuters, módulo de Inteligência Regulatória Cortellis utilizando a palavra-chave "monoclonal antibod" e os filtros: Categoria, Tipo, Versão e Status, identificou inicialmente 44 países com algum tipo de documento aplicável aos anticorpos monoclonais além das Agências Internacionais EMA e ICH e OMS.

Ao identificar o documento, a base de dados disponibiliza também o seu resumo. Sendo assim, o próximo passo foi avaliar tais resumos para verificar a aplicabilidade do conteúdo ao registro sanitário de anticorpos monoclonais. Após essa análise, verificamos que apenas os documentos de vinte e três países e das três Agências Internacionais eram aplicáveis. Isso ocorre porque grande parte dos países que foram identificados inicialmente é europeia, onde o registro de medicamentos biotecnológicos é centralizado pela EMA. Os países da União Europeia têm autonomia apenas para regularem outras questões, como por exemplo, materiais de embalagem e intercambiabilidade. Foi verificado ainda que é comum os documentos serem aplicáveis a diversas categorias de produtos biológicos incluindo os anticorpos monoclonais.

Percebemos ao longo da busca e análise dos documentos, que Cuba um país historicamente regulado, não constava na pesquisa. Foi esclarecido pelo representante da Cortellis Thomson Reuters que o país não era coberto pela base. Sendo assim, este foi incluído na próxima etapa do trabalho, totalizando 24 países e três Agências Internacionais selecionados para a etapa de busca e avaliação dos marcos regulatórios para registro de produtos biotecnológicos incluindo mAbs.

Na etapa de avaliação, confirmamos que os documentos publicados pelas diversas agências possuem diferentes graus de detalhamento. Foi verificado que apesar de conjunto considerável de agências possuírem alguma legislação para mAbs, na maioria dos casos, assim como na ANVISA, esses guias não são exclusivos para este tipo de

produto. Na verdade, com exceção do EMA e OMS, que possuem respectivamente os documentos específicos *Guideline on development, production, characterization and specification for monoclonal antibodies and related products* e *Guidelines on evaluation of monoclonal antibodies as similar biotherapeutic products* (em revisão) e de Cuba, que possui um seção específica dentro do seu documento *Resolución N° 70/2011, Regulación No. 56/2011 Requisitos para el Registro de Productos Biológicos Conocidos* para tratar do tema, os demais países regulam o tópico anticorpos monoclonais junto aos requisitos destinados a proteínas terapêuticas, produtos biotecnológicos ou possuem uma única regulamentação para tratar de todas as classes de produto biológico. Apresentando a mesma lacuna já observada na RDC n°55/2010 no que se refere a uma falta de orientações mais específicas sobre como os fabricantes deverão atender ao disposto no documento.

É importante ressaltar que mesmo as agências que possuem documentos específicos para mAbs como é o caso da EMA e OMS, esses são um complemento aos guias aplicáveis aos produtos de origem biotecnológica e buscam orientar os fabricantes em relação essas moléculas no âmbito dos biossimilares. Sendo assim eles devem ser analisados em conjunto. Por exemplo, ao estudar os requerimentos da OMS para registro anticorpos monoclonais, o solicitante deve considerar minimamente os guias *Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology* and the *Guidelines on evaluation of monoclonal antibodies as similar biotherapeutic products*.

Foi observado que é uma prática comum a muitos países, referenciar documentos das Agências Internacionais em suas regulamentações. Como um exemplo, a Agência Venezuelana recomenda que o solicitante do registro busque orientações nos guias destinados a qualidade de produtos biotecnológicos publicados pelo ICH ou no *Guidelines for assuring the quality of pharmaceutical and biological products prepared by recombinant DNA technology* publicado pela OMS.

Ainda em relação aos documentos utilizadas como referências, que apesar das resoluções da ANVISA serem fortemente influenciadas pelos guias publicados pela EMA e OMS, a agência não estimula o solicitante subsidiar a solicitação de registro com dados estabelecidos nas regulamentações das Agências Internacionais.

Foi percebido que assim como ocorreu no Brasil, onde a ANVISA estabeleceu critérios de comparabilidade na última revisão da sua regulamentação de registro de produtos biológicos novos e produtos biológicos, buscando estabelecer requisitos para

produtos biossimilares, e neste caso os anticorpos monoclonais estão incluídos, outras agências também adotaram esta premissa. Como exemplo, temos a Colômbia que publicou em 2015 o Decreto nº1782, aplicável a registro de produtos biológicos, incluindo anticorpo monoclonal, e no mesmo documento já previu critérios de comparabilidade para biossimilares. No quadro 4.1, estão apresentadas as referências utilizadas pelas agências na construção do marco regulatório, independentemente de ser um documento específico a esta classe de produtos ou um documento aplicável a produtos biotecnológicos em geral com abrangência anticorpos monoclonais para uso terapêutico.

A análise das referências dos guias utilizados pelos vinte e quatro países identificados como possuindo algum requisito para registro de anticorpos monoclonais mostrou que com exceção da ANVISA (Brasil) e Anmat (Argentina), todos os países que participaram da pesquisa referenciam o ICH, OMS e/ou a EMA, sendo que o ICH é uma referência utilizada na construção dos marcos propostos inclusive pela própria OMS e EMA.

Existem alguns motivos para isso. Em primeiro lugar precisamos lembrar que o ICH é composto por especialistas das ARs e das indústrias da Europa, Japão e Estados Unidos, regiões que possuem histórico de desenvolvimento e lançamento de novos produtos e tecnologias, e que novas tecnologias exigem novos marcos regulatórios para dar suporte aos fabricantes e garantir a segurança dos produtos que serão disponibilizados para a população. De forma geral, os países localizados em regiões que não possuem tradição de lançamentos de produtos inovadores para disponibilização no mercado global, como por exemplo, os países da América Latina, comercializam esses produtos ou pela representante da multinacional que desenvolveu o produto e possui sede no país latino, ou através do desenvolvimento local dos produtos, após a expiração de patente dos produtos inovadores, como ocorre com o biossimilar. Sendo este, um dos fatores que contribuem para que o marco regulatório desses países seja construído baseando-se nas regulamentações previamente discutidas e estabelecidas. Podemos dizer que é exatamente essa a realidade atual do Brasil. Por um lado temos a expiração das patentes de diversos anticorpos monoclonais inovadores associados a uma política de governo que motivada por fatores econômicos e sociais vem estabelecendo uma série de iniciativas para disponibilizar esses produtos para a população, inclusive definindo marcos regulatórios como a Lei nº 12.401/2011 sobre assistência terapêutica e incorporação de novas tecnologias em saúde, onde ao mesmo tempo em que determina que protocolo clínico ou

diretriz terapêutica são atribuições do Ministério da Saúde coloca que as evidências científicas sobre eficácia, efetividade e a segurança do medicamento deve ser acatadas pelo órgão competente para o registro, ou seja, a ANVISA (Brasil, 2011).

Agências Internacionais	Agências Internacionais	Referências utilizadas na construção dos Guias das Agências Internacionais
	ICH	Não aplicável
	WHO	EMA/ICH
	EMA	ICH
País	Agência Regulatória	Referências utilizadas na construção dos Documentos para registro de produtos de produtos biotecnológicos dos países avaliados
Estados Unidos	FDA	ICH
Canadá	HC	ICH/EMA
Cuba	CECMED	WHO/ICH/EMA
México	COFEPRIS	WHO/EMA
Argentina	ANMAT	Não aplicável
Brasil	ANVISA	Não aplicável
Chile	ISPHC	WHO/EMA/ICH
Colômbia	INVIMA	WHO/EMA/FDA
Venezuela	INHRR	WHO/ICH
Peru	MINSA	WHO
Coréia do Sul	KFDA	EMA/WHO
China	CFDA	EMA
Singapura	HSA	EMA
Indonésia	NA-DFC	WHO/ICH
Austrália	TGA	EMA
Nova Zelândia	MEDSAFE	EMA/FDA
Japão	PMDA	EMA/ICH
Taiwan	FDA	ICH
Malásia	Na	EMA
Índia	CDSCO	WHO/EMA/ICH
Egito	EDA	WHO/EMA/FDA/ICH
África do Sul	MCC	WHO/EMA/Health Canadá
Arábia Saudita	SFDA	EMA/ICH
Turquia	MOH	EMA

Quadro 4.1: Referências utilizadas pelas Agências Internacionais e pelas ARs que já estabeleceram Guias e orientações para Anticorpos monoclonais inclusive no âmbito dos biossimilares.

Diante deste cenário, a construção de requerimentos específicos para alinhar as expectativas dos fabricantes e Órgãos Regulatórios tanto no âmbito sanitário como no âmbito político, seja aumentando a agilidade da disponibilização desses produtos e gerando o acesso da população a tratamentos inovadores e reduzindo os custos do Estado na área da saúde ou através de uma melhor orientação dos fabricantes na construção do processo de registro e das ARs através da identificação dos principais parâmetros que devem ser avaliados, parece uma boa alternativa.

Nesta etapa, foi identificado que as Agências Internacionais EMA, ICH e OMS são utilizadas como referência na construção da regulamentação dos países que possuem documentos aplicáveis a mAbs para uso terapêutico, sendo assim, os requisitos de produção e controle adotados por estas agências serão utilizados na próxima etapa deste trabalho.

4.2 - Construção do Diagrama de Ishikawa.

A utilização de ferramentas estruturadas de qualidade para a resolução de problemas captura ideias diferentes e indicam o caminho para a causa raiz de alguns problemas. Na abordagem deste trabalho, o diagrama de Ishikawa teve como objetivo apresentar visualmente as características observadas nos diferentes guias das agências EMA, ICH e OMS, para produção e controle dos mAbs para uso terapêutico. Independente da agência, os requisitos técnicos aplicáveis ao produto são categorizados da seguinte forma: produção (ingrediente farmacêutico ativo e processamento final), qualidade e estudos pré-clínicos e clínicos.

Nem sempre as categorias de informações estão todas no mesmo Guia, algumas agências como, por exemplo, a EMA possui Guias separados por assunto e em alguns casos, por produto. Na construção do diagrama de Ishikawa não foram considerados os aspectos clínicos. Este é um tema a ser abordado em discussão futura, principalmente porque o conjunto de dados clínicos, a extensão e o desenho do estudo irão variar conforme o produto que se pretende registrar. No entanto, entendemos que detalhar as informações de produção e controle aplicáveis aos requisitos já estabelecidos na atual RDC nº55/2010, é um grande passo para orientar os solicitantes de registro de mAbs, em relação ao que precisa ser apresentado de documentação e também facilitar a análise pelo Órgão Regulador nos requisitos mais importantes e críticos.

O diagrama de Ishikawa auxilia e ajuda a trazer uma exploração mais aprofundada dos principais parâmetros que influenciam na produção e controle de mAbs para uso terapêutico. A definição desses parâmetros seguiu a lógica das etapas de produção de um anticorpo monoclonal e também a forma como os diferentes documentos pesquisados, são organizados. Sendo assim foram criados quatro parâmetros: vetor de expressão e célula hospedeira, sistemas de banco de células, meio de cultura e outros materiais e processo produtivo.

a) Vetor de Expressão e Célula Hospedeira

Como no vetor de expressão é inserida a sequência codificante da proteína recombinante que se pretende expressar na célula hospedeira, podemos dizer que esta é uma etapa delicada do processo de obtenção de um produto derivado de tecnologia de ADN recombinante já que proteínas recombinantes produzidas em células vivas podem ser submetidas a mutações que levam a alterações em suas propriedades com potenciais consequências adversas aos pacientes. Nenhuma abordagem experimental única é capaz de detectar todas as modificações possíveis na proteína. Neste caso é necessária a combinação de diversas metodologias e uma série de controles e informações que garantam que a sequência codificante que vai gerar o produto foi inserida corretamente e que características como a estrutura secundária, terciária e modificações pós-traducionais foram mantidas. (ICH Q5B, 1996).

b) Sistema de Banco de Células

Um ponto importante a ser considerado em relação a *master cell bank* (MCB) e *work cell bank* (WCB) é a estabilidade. O banco de células deve ser armazenado de forma que suas características bioquímicas, morfológicas e suas sequências nucleotídicas sejam mantidas. Além disso, o método de armazenamento deve prevenir contaminações (Pérez e Prieto, 2007).

É consenso entre as ARs que todos os bancos celulares devem ser caracterizados em relação aos marcadores genotípicos e fenotípicos e avaliados quanto à pureza. Os principais requisitos para banco de células foram estabelecidos pelo ICH em 1997 através do documento *Derivation and characterization of cells substrates used for production of biotechnological /biological products Q5D* sendo até os dias atuais, a principal referência regulatória no tema.

Em 2010, na publicação da RDC nº55 para registro de produtos biológicos, a ANVISA estabeleceu superficialmente os requisitos para banco de células. Com a publicação da RDC nº49/2011, o tema banco de células foi novamente regulado, porém no contexto de alterações pós-registro. Sendo o estabelecimento de um novo banco considerado uma alteração de maior nível. Apesar da referida Resolução apresentar um grau maior de detalhamento em relação aos requisitos para banco de células, ainda existem lacunas em relação ao que precisa ser apresentado, aumentando a possibilidade do processo elaborado pelo fabricante não atender a expectativa da agência, gerando, portanto atraso na publicação da aprovação da alteração solicitada.

Em 2014, a publicação da RDC nº 69 que dispõe sobre Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos Ativos, dedicou uma seção às questões relacionadas a insumos obtidos por culturas de células/fermentação. Apesar de ser uma regulamentação voltada para as Boas Práticas de Fabricação, o conhecimento desta RDC pode ajudar em relação as questões técnicas para registro sanitário, uma vez que oferece orientações adicionais sobre registros que devem ser realizados nas etapas de cultura de células e remoção ou inativação viral (Brasil, 2014).

Uma lacuna encontrada mesmo nos Guias das Agências Internacionais foi que existe uma grande discussão em torno da utilização de células animais como sistemas de expressão, uma vez que realmente, no caso de moléculas inteiras e complexas como no caso de anticorpos monoclonais esses são os sistemas mais adequados por serem capazes de realizar modificações pós-traducionais. No entanto atualmente contamos também com os fragmentos de anticorpos que podem ser produzidos em outros sistemas procariotos como o *E. coli*. Situações como estas levam fabricantes a buscar e adaptar as informações de diversos guias a sua condição ou a suas expectativas. Para estes casos, as agências acabam fazendo com que as análises de solicitação de registro sejam feitas caso a caso. Tal situação mostra a importância de uma constante revisão e atualização de guias conforme o surgimento de novas tecnologias.

c) Meio de Cultura e outros materiais

Historicamente, as principais preocupações relativas à segurança dos medicamentos biológicos produzidos em células têm sido relacionadas com a possível presença de contaminantes microbianos nos meios e nos materiais utilizados durante o

processo de manufatura e, em alguns casos, com as propriedades e componentes das próprias células (WHO, 2010).

De acordo com o *Guideline ICH Q5A Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products derived from cell lines of human or animal origin*, podem ocorrer contaminações por agentes adventícios durante a produção, como por exemplo o uso de reagentes de origem animal ou mesmo contaminação do meio de cultivo durante o processamento.

As agências, em geral, apresentam uma preocupação adicional em relação a contaminação por encefalopatia espongiforme transmissível. A OMS possui dois guias a respeito do tema: *Guidelines on transmissible spongiform encephalopathies in relation to biological and pharmaceutical products* e o *Guidelines on tissue infectivity distribution in transmissible spongiform encephalopathies*.

Em relação a ANVISA, a RDC nº55/2010 estabelece que em caso de utilização de materiais de origem ruminante, o solicitante deverá apresentar a documentação para o controle de encefalopatia espongiforme transmissível, tal requisito pode ser aplicado a qualquer sistema de expressão.

d) Processo Produtivo

Após a formação do banco de células mestre e de trabalho ocorrem as etapas de expansão, purificação, isolamento, formulação e envase do produto além de todos os controles em processo associados.

O guia “*Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology*” publicado pela OMS em 2013 é o mais completo em relação a essas etapas, pois descreve em detalhes os aspectos produtivos considerando inclusive requisitos para os tipos de cultivos a serem adotados (cultivo contínuo ou cultivo com número finito de passagens). A RDC nº55/2010 não faz considerações específicas a respeito dessas etapas. De acordo com o documento, o solicitante deverá descrever detalhadamente as etapas de fabricação no relatório técnico e identificar e justificar a seleção das etapas críticas e controles em processo.

A purificação é uma das etapas mais críticas, e dependendo do processo e do sistema de cultivo, além dos contaminantes provenientes do meio, pode haver também resíduos da degradação do próprio produto. A eficiência do processo de purificação está

diretamente relacionada a segurança do paciente e rendimento do produto (Birch e Racher, 2006).

Na pesquisa realizada, foi possível identificar a forma como as agências Internacionais tratam os requisitos para os principais parâmetros como vetor de expressão e célula hospedeira, banco de células, meio de cultura e outros materiais e processo produtivo. Estes dados estão compilados no quadro 4.2.

Requisitos para os principais Parâmetros de Controle e Produção para registro de mAbs				
	Vetor de Expressão e Célula Hospedeira	Sistema de Banco de Células	Meio de Cultura e outros materiais	Processo Produtivo
OMS	<p>Requisitos claros para vetor de expressão e célula hospedeira, considerando a construção do vetor, transformação da célula e identificação de agentes adventícios principalmente os de origem viral.</p> <p><i>Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology</i></p>	<p>Requisitos detalhados para MCB e WCB com ênfase para estabilidade e caracterização.</p> <p><i>Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology</i></p> <p>Outros guias relacionados: <i>WHO Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks</i></p>	<p>Os materiais usados devem ser listados indicando a etapa do processo. Demonstração da origem e comprovação a ausência de agentes adventícios.</p> <p>Guias relacionados: <i>WHO Guidelines on transmissible spongiform encephalopathies in relation to biological and pharmaceutical products</i></p>	<p>Define Critérios para cultivo com om número finito de passagens e cultivo contínuo. Em ambos casos, estabilidade e rendimento do produto são requeridos. A OMS solicita que o processo de purificação seja descrito detalhadamente. No caso de cultivo contínuo, deve ser demonstrada a remoção ou inativação de vírus e DNA residual.</p> <p><i>Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology</i></p>
UE	<p>Deve estar de acordo como os Guias publicados pelo ICH: Q5A, Q5B and Q5D.</p>	<p>Deve estar de acordo como os Guias publicados pelo ICH: Q5A, Q5B and Q5D.</p>	<p>Deve estar de acordo como os Guias publicados pelo ICH: Q5A, Q5B and Q5D.</p>	<p>Não possui Guia específicos</p>

Requisitos para os principais Parâmetros de Controle e Produção para registro de mAbs (Continuação)				
	Vetor de Expressão e Célula Hospedeira	Sistema de Banco de Células	Meio de Cultura e outros materiais	Processo Produtivo
ICH	Q5A, Q5B, Q5C and Q5D.	Q5A, Q5B, Q5C and Q5D.	Q5A, Q5B, Q5C and Q5D.	Não possui Guia específico.
ANVISA	A RDC nº 55/2010 coloca que as informações devem ser apresentadas, mas não há detalhamento sobre extensão de abrangência das informações.	A RDC nº 55/2010 coloca que as informações devem ser apresentadas, mas não há detalhamento sobre extensão.	A RDC nº 55/2010 coloca que as informações devem ser apresentadas, mas não há detalhamento sobre extensão de abrangência das informações.	A RDC nº 55/2010 coloca que as informações devem ser apresentadas, mas não há detalhamento sobre extensão de abrangência das informações.

Quadro 4.2: Demonstração sobre com os parâmetros vetor de expressão e célula hospedeira, banco de células, meio de cultura e outros materiais e processo produtivo são regulados pela EMA, ICH, OMS e ANVISA. Onde: Q5A - *Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin*; Q5B - *Analysis of the Expression Construct in Cells Used for Production of r-DNA Derived Protein Products*; Q5C - *Stability Testing of Biotechnological/Biological Products*; Q5D - *Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products*

Nossa pesquisa encontrou dados comuns nos guias das Agências Internacionais, assim como informações disponíveis em apenas no documento de uma Agência internacional, como ocorre com o parâmetro processo produtivo, onde a OMS oferece orientações mais detalhadas a respeito do tema. Isto mostra uma complementariedade entre os Guias das Agências Internacionais.

A partir do compilado destas informações foi desenhado um diagrama baseado no clássico Diagrama de Ishikawa que abrange os pontos de variabilidade nos diferentes guias das agências EMA, ICH e OMS (figura 4.1).

Ao analisar mais detalhadamente os documentos de pesquisa, tivemos algumas percepções. A primeira delas foi que os Guias publicados pelo ICH, particularmente o ICH Q5A, Q5B, Q5C e Q5E são as principais referências para os requisitos de vetor de expressão e célula hospedeira, banco de células e meio de cultura e outros materiais. Neste caso precisamos levar em consideração que apesar dos guias terem sido publicados na década de 90, por serem Guias que trazem conceitos, suas informações foram incorporadas por outras agências de referência como a EMA e sua aplicabilidade é estendida aos Anticorpos Monoclonais.

Duas fragilidades foram identificadas nos guias do ICH, a falta de atualização, uma vez que diversos avanços ocorreram no campo da biotecnologia e inovação de produtos para anticorpos monoclonais, outro aspecto é que os Guias do ICH não abordam as etapas após o estabelecimento do banco de células.

O Guia *Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology*, publicado pela OMS apesar de não ser específico para anticorpos monoclonais, cobre os requisitos para produção e controle dessas moléculas, contempla todas as etapas produtivas desde a construção do vetor de expressão até o processamento final do produto.

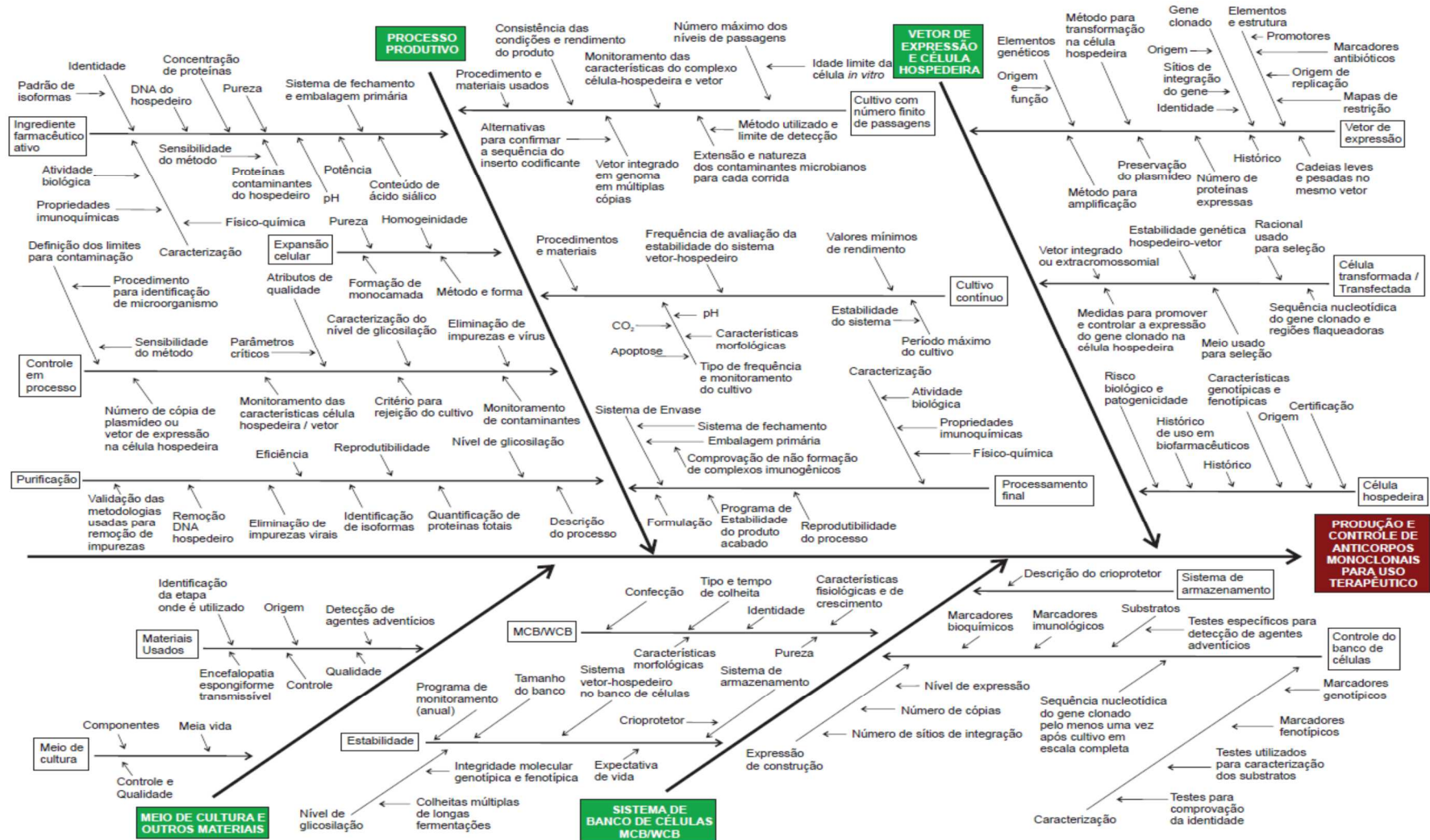


Figura 4.1: Diagrama Ishikawa sistematizando as informações das Agências ICH, OMS e EMA quanto aos parâmetros que influenciam na produção e controle de anticorpos monoclonais para uso terapêutico

A EMA, apesar de ser uma agência muito referenciada e pioneira no estabelecimento de requisitos para anticorpos monoclonais no âmbito dos biossimilares, não possui guias atuais para a produção de biotecnológicos inclusive para mAbs adotando integralmente os Guias ICH Q5A, Q5B, Q5C e Q5E datados respectivamente de 1999, 1997, 1997 e 2004 o que retrata uma certa fragilidade em relação a novas tecnologias e inovação em processos de produção de novas moléculas.

Em 2007 a EMA publicou um guia específico destinado a mAbs para uso terapêutico denominado “*Guideline on development, production, characterization and specification for monoclonal antibodies and related products*”. Este documento, se concentra na caracterização dessas moléculas e detalha o que se espera da caracterização físico-química, das propriedades imunológicas, atividades biológicas, pureza, impureza e contaminantes (EMA, 2007). Os requisitos relacionados à caracterização foram refletidos de forma objetiva no Diagrama de Ishikawa nos parâmetros Sistema de Banco células, Vetor de Expressão e Célula Hospedeira e Processo Produtivo

A OMS possui um guia em consulta pública denominado “*Guidelines on evaluation of monoclonal antibodies biosimilar biotherapeutic products (SBPs)*”. O guia é voltado principalmente para as questões de caracterização. No documento é apresentada uma abordagem muito similar ao guia publicado pela EMA em 2007. Apesar de receber no título o termo mAbs biossimilares, a OMS deixa claro no item escopo que as diretrizes podem ser aplicáveis a qualquer mAbs. Desta forma, os sub-parâmetros relacionados a caracterização do Diagrama de Ishikawa refletiram as visões da EMA e OMS.

De forma geral, percebemos que a regulamentação aplicada para as etapas de produção de controle para anticorpos monoclonais obtidos por tecnologia de ADN recombinante é a mesma aplicada a outros produtos obtidos por esta via. O diferencial no caso de mAbs está nos requisitos de caracterização. Observamos que os Guias específicos para mAbs publicados pelas Agências Internacionais concentram suas informações em como os fabricantes poderão caracterizar a moléculas de mAbs obtidas, sendo assim é sugerida a aplicação de metodologias capazes de avaliar as estruturas primária, secundária, terciária e quaternária, a estrutura glicana, a caracterização das propriedades imunoquímicas e a avaliação detalhada da atividade biológica, demonstrando o mecanismo de ação (ex: anticorpo-dependente, citotoxicidade celular, citotoxicidade

dependente do sistema complemento ou apoptose) de ação e habilidade para ativar outras funções efectoras.

Ou seja, em um cenário onde pequenas mudanças podem levar a graves consequências clínicas, em pacientes com a saúde já debilitadas, todos os recursos capazes de caracterizar a molécula, e detectar mínimas mudanças, devem ser utilizados.

4.3 - Proposta de requerimentos de produção de controle de qualidade para registro sanitário de anticorpos monoclonais para uso terapêutico.

A partir do Diagrama Ishikawa, que buscou conciliar e sistematizar as informações abordadas nos Guias do ICH, EMA e OMS, foi construído o formulário (Anexo 1) que poderia dar suporte a um processo de consulta pública para um marco legal nacional pensado e dirigido ao registro de anticorpos monoclonais, no que tange aos aspectos de produção e controle, uma vez que este trabalho não abordou aspectos clínicos. Para este formulário os itens estão apresentados de forma que os participantes podem opinar sobre a criticidade de cada um dos itens e sua pertinência no processo de registro sanitário e assim, futuramente a Agência Reguladora Nacional poderá compilar estas informações de produção de controle para um documento mais robusto.

Para uma melhor visualização sobre como os requisitos agrupados neste trabalho poderiam contribuir para uma complementação a RDC nº55/2010 no que tange as regras para registro de anticorpos monoclonais para uso terapêutico, foi preparado um quadro comparativo para cada parâmetro sistematizado no Diagrama de Ishikawa e descrito no Anexo 1 com os atuais requisitos estabelecidos pela referida RDC.

A comparação referente aos parâmetros vetor de expressão e célula hospedeira, banco de células, meio de cultura e outros matérias e processo produtivo estão apresentados respectivamente nos quadros 4.3, 4.4, 4.5 e 4.6.

A. Célula Hospedeira e Vetor de Expressão	
Requisitos Propostos	RDC n°55/2010
A1. Célula Hospedeira	
1. Origem da célula hospedeira	Descrição da cepa/linhagem da célula hospedeira
2. Histórico da célula hospedeira	
3. Certificação de célula hospedeira	
4. Descrição das características genotípicas e fenotípicas	
5. Descrição do histórico da célula em relação ao seu emprego na produção de produtos Biofarmacêuticos	
6. Descrição da patogenicidade e informações relacionadas ao risco biológico, quando aplicável	
A2. Vetor de Expressão	
7. Origem do vetor de expressão	Descrição do vetor de expressão usado para o desenvolvimento do banco de células mestre
8. Histórico do vetor de expressão	
9. Elementos genéticos do vetor de expressão incluindo origem e função	
10. Informar se o vetor expressa mais de uma proteína (proteínas de fusão)	
11. Descrever o método utilizado para preservação dos plasmídeos	
12. Informações sobre os elementos e estrutura do vetor de expressão (origem de replicação, promotores, Marcadores Antibióticos, Mapa de Restrição)	
13 - Indicar se a cadeia leve e pesada está no mesmo vetor ou em vetores separados	
14. Métodos usados para amplificar o vetor de expressão	
15. Descrição completa do método utilizado para transformar/transfectar o vetor de expressão na célula hospedeira	
16. Detalhes sobre a origem e identidade do gene a ser clonado e os sítios de integração do gene no vetor de expressão	
A3. Célula Transformada / Transfectada	
17. Racional usado para selecionar a célula clonada.	Descrição do método de inserção do vetor na célula Sequência do gene clonado Descrição dos métodos de seleção de clones e controle de expressão Documentação relacionada à estabilidade genética do vetor na célula hospedeira;
18. Meio usado para a seleção da célula clonada	
19. Informar se o vetor é integrado ou extra cromossomal.	
20. Estabilidade genética da combinação hospedeiro-vetor.	
21. Sequência nucleotídica do gene clonado e das regiões flaqueadoras do vetor de expressão	
22. Descrição detalhada das medidas para promover e controlar a expressão do gene clonado na célula hospedeira durante a produção	

Quadro 4.3: Quadro comparativo entre os resultados da construção do Diagrama Ishikawa e a RDC n° 55/2010 considerando os requisitos para vetor de expressão e célula hospedeira.

B. Sistema de Banco de Células	
Requisitos Propostos	RDC nº55/2010
B1. Master Cell Bank e Work Cell Bank	
23. Identidade.	Descrição dos bancos de células mestre e de trabalho;
24. Pureza.	
25. Tipo e tempo de colheita	
26. Características fisiológicas de crescimento	
27. Características morfológicas	
28. Descrição de detalhada da confecção do MCB/WCB	
B2. Estabilidade do sistema de banco de células	
29. Expectativa da vida do Banco de Células.	<p>- Relação e frequência de realização dos testes utilizados para a avaliação da estabilidade dos bancos de células mestre e de trabalho</p> <p>- Determinação da idade celular máxima <i>in vitro</i>;</p>
30. Tamanho do Banco de Células (número de ampolas).	
31. Estabilidade do sistema vetor-hospedeiro no banco de células.	
32. Descrição do nível de glicosilação e integridade molecular fenotípica e genotípica principalmente nos casos de colheitas múltiplas de longas fermentações.	
33. Sistema de armazenamento incluindo a descrição do crioprotetor.	
34. Programa de Monitoramento da Estabilidade - Frequência Anual.	
B3. Controle do sistema de banco de células	
35. Marcadores bioquímicos	Descrição das atividades de controle de qualidade e estabilidade durante a Produção e estocagem dos bancos de células mestre e de trabalho
36. Marcadores imunológicos	
37. Substratos incluindo testes específicos para detecção de agentes adventícios	
38. Expressão de construção incluindo o nível de expressão, número de cópias e número de sítios de integração	
39. Determinação da sequência nucleotídica do gene clonado pelo menos uma vez a cada passagem do "Master Cell Bank" para o "Work Cell Bank".	
40. Caracterização do "Master Cell Bank" por marcadores genotípicos e fenotípicos, testes para comprovação da identidade.	

Quadro 4.4: Quadro comparativo entre os resultados da construção do Diagrama de Ishikawa e a RDC nº 55/2010 ANVISA considerando os requisitos para sistema de banco de células.

C. Meio de Cultura e Outros Materiais	
Requisitos Propostos	RDC nº55/2010
C1. Meio de cultura	
41. Descrição dos componentes do meio de cultura.	Descrição das soluções, componentes e meios de cultura usados na fabricação do produto biológico
42. Qualidade e controle dos componentes do meio.	
43. Componentes do meio de cultura e qualidade, controle e meia vida dos ingredientes do meio.	
C2. Materiais	
44. Origem dos Materiais (regentes, solventes e enzimas) usados na produção do Ingrediente Farmacêutico Ativo.	Apresentação de documentação para o controle de encefalopatia espongiforme transmissível
45. Qualidade e controle dos materiais.	
46. Utilização de metodologias capazes de detectar agentes adventícios.	Avaliação da segurança para agentes adventícios dos materiais de partida de origem biológica
47. Identificação das etapas onde os materiais são utilizados.	
48. Comprovação de que o material é livre de encefalopatia espongiforme transmissível.	

Quadro 4.5: Quadro comparativo entre os resultados da construção do Diagrama de Ishikawa e a RDC nº 55/2010 ANVISA considerando os requisitos para meio de cultura e outros materiais.

D. Processo Produtivo	
Requisitos Propostos	RDC n°55/2010
D1. Produção de ingrediente farmacêutico ativo	
49. Identidade do ingrediente farmacêutico ativo incluindo o padrão de Isoformas.	- Estrutura primária, indicando os sítios de modificações pós-traducionais;
50. Detecção do DNA do Hospedeiro no Ingrediente Farmacêutico Ativo.	-Estruturas secundária, terciária e quaternária; Determinação das
51. Concentração de Proteínas.	propriedades físico-químicas e
52. Determinação do Nível de Pureza (ELISA ou HPLC).	imunoquímicas;
53. Identificação das Proteínas Contaminantes do Hospedeiro no IFA e Sensibilidade dos Métodos utilizados para identificação de contaminantes.	- Massa molecular relativa; - Caracterização das formas resultantes de modificações pós-traducionais; - Determinação do grau de pureza; - Dados sobre agregados
54. Determinação de pH.	
55. Determinação da potência.	
56. Determinação do Conteúdo de Ácido Siálico.	
57. Descrição do sistema de fechamento e embalagem primária do Ingrediente Farmacêutico Ativo.	
58. Caracterização Físico Química, incluindo a avaliação da estrutura primária, secundária, terciária e quaternária e avaliação da estrutura Glicana, caracterização das propriedades imunoquímicas e Avaliação detalhada da atividade biológica, demonstrando o mecanismo de ação (ex: anticorpo-dependente, citotoxicidade celular, citotoxicidade dependente do sistema complemento ou apoptose) de ação e habilidade para ativar outras funções efetoras.	

Quadro 4.6: Quadro comparativo entre os resultados da construção do Diagrama de Ishikawa e a RDC n° 55/2010 ANVISA considerando os requisitos para processo produtivo.

D. Processo Produtivo (Continuação)	
Requisitos Propostos	RDC n°55/2010
D2. Expansão celular	
59. Método e forma (tubo de cultura, rolller).	Não há informação específica sobre este tema. Consta apenas que as etapas de fabricação devem ser apresentadas detalhadamente e que a seleção das etapas críticas deve ser validada e justificada.
60. Avaliação da homogeneidade.	
61. Avaliação da pureza.	
62. Informações sobre a formação da monocamada.	
D3. Cultivo com número finito de passagens	
63. Descrição detalhada de todos os procedimentos e materiais usados para o cultivo celular e indução do produto.	Não há informação específica sobre este tema. Consta apenas que as etapas de fabricação devem ser apresentadas detalhadamente e que a seleção das etapas críticas deve ser validada e justificada.
64. Fornecer dados sobre a extensão e natureza de qualquer contaminação microbiana para cada corrida e a sensibilidade o conjunto de métodos utilizados para detecção.	
65. Dados sobre a consistência das condições e crescimento da cultura e do rendimento do produto.	
66. Demonstração do número máximo dos níveis de passagens permitidos considerando a idade limite da célula <i>in vitro</i> .	
67. Demonstração de como é realizado o monitoramento das características do complexo célula-hospedeiro e do vetor no final dos ciclos de produção.	
68. Nos casos em que o vetor estiver presente em múltiplas cópias integrados dentro do genoma da célula hospedeira, demonstrar as abordagens alternativas utilizadas para confirmar a sequência do inserto codificante do produto derivado de DNA recombinante.	

Quadro 4.6: Quadro comparativo entre os resultados da construção do Diagrama de Ishikawa e a RDC n° 55/2010 ANVISA considerando os requisitos para processo produtivo.

D. Processo Produtivo (Continuação)	
Requisitos Propostos	RDC n°55/2010
D4. Cultivo contínuo	
69. Descrição detalhada de todos os procedimentos e materiais usados para o cultivo celular e indução da expressão do produto.	Não há informação específica sobre este tema. Consta apenas que as etapas de fabricação devem ser apresentadas detalhadamente e que a seleção das etapas críticas deve ser validada e justificada.
70. Descrição do tipo e frequência do monitoramento realizado durante o tempo de cultivo considerando os parâmetros de pH, CO ₂ , apoptose e características morfológicas.	
71. Estabelecer os valores mínimos de rendimento a serem atingido e demonstrar que as variações no rendimento e nos parâmetros de cultivo não ultrapassam os limites especificados.	
72. Especificar o período máximo do cultivo contínuo baseado na informação da estabilidade do sistema e consistência do produto.	
73. Demonstrar a frequência e como é realizada a avaliação da estabilidade do sistema vetor hospedeiro ao longo do cultivo contínuo.	
D5. Purificação	
74. Descrição do processo de purificação.	Validação dos procedimentos de remoção e/ou eliminação virais utilizados, quando aplicável; Descrição dos processos envolvidos para diminuição/remoção das impurezas originadas pela decomposição do produto ou pelo processo de fabricação
75. Demonstração da Eficiência do processo de purificação.	
76. Metodologia utilizada para remoção de DNA do hospedeiro no Ingrediente Farmacêutico Ativo.	
77. Metodologia utilizada para quantificação de proteínas totais.	
78. Metodologia utilizada para identificação de impurezas de isoformas.	
79. Validação das Metodologias utilizadas para remoção do DNA do hospedeiro, para quantificação de proteínas totais e para identificação de impurezas e isoformas.	
80. Metodologia utilizada para eliminação de impurezas virais.	

Quadro 4.6: Quadro comparativo entre os resultados da construção do Diagrama de Ishikawa e a RDC n° 55/2010 ANVISA considerando os requisitos para processo produtivo.

D. Processo Produtivo (Continuação)	
Requisitos Propostos	RDC n° 55/2010
D6. Controle em Processo	
81. Controle em Processo dos Parâmetros críticos que impactam nos atributos de qualidade.	<p>Descrição dos controles em processo e justificativa para determinação das especificações</p> <p>Apresentação do critério utilizado para rejeição de lotes de cultivo</p>
82. Descrição sobre como é realizado o monitoramento de contaminantes.	
83. Definição dos limites para contaminação, considerando a sensibilidade dos métodos utilizados e o procedimento adotado para identificação do microrganismo em caso de contaminação.	
84. Apresentação do critério utilizado para rejeição de lotes de cultivo	
85. Descrição de como é realizado o monitoramento das características Célula Hospedeira/Vetor no final dos ciclos de produção.	
86. Quantificação da redução do número de cópias de plasmídeo ou do vetor de expressão dentro da célula hospedeira.	
87. Descrição de como é realizada a eliminação de Impurezas e vírus.	
88. Caracterização do nível de glicosilação do anticorpo monoclonal no produto final.	
D7. Processamento Final	
89. Descrição do Sistema de Envase.	- Descrição das etapas produtivas
90. Descrição da Formulação.	- Descrição da formulação
91. Demonstração da Reprodutibilidade do Processo.	- Validação do processo
92. Programa de Estabilidade do Produto Acabado.	- Estudos de estabilidade
93. Descrição do sistema de fechamento e embalagem primária do Produto Acabado, incluindo a descrição do teste de integridade e comprovação de que não há interação da embalagem com o produto assim como formação de complexos imunogênicos.	- Descrição e especificações das embalagens primárias e secundárias Caracterização dos contaminantes e impurezas
94. Caracterização Físico Química incluindo tamanho, carga, ponto isoelétrico, sequência aminoácida, hidrofobicidade e modificações pós-traducionais, avaliação da estrutura primária, secundária, terciária e quaternária. Avaliação da estrutura Glicana, caracterização das propriedades imunoquímicas e avaliação detalhada da atividade biológica, demonstrando o mecanismo de ação (ex: anticorpo-dependente, citotoxicidade celular, citotoxicidade dependente do sistema complemento ou apoptose) de ação e habilidade para ativar outras funções efetoras.	- Caracterização da substância ativa no produto biológico terminado, sendo obrigatória a apresentação das estruturas secundária, terciária e quaternária; determinação da atividade biológica Determinação do grau de pureza. Dados sobre agregados; e determinação das propriedades físico-químicas e imunoquímicas

Quadro 4.6: Quadro comparativo entre os resultados da construção do Diagrama de Ishikawa e a RDC n° 55/2010 ANVISA considerando os requisitos para processo produtivo.

Na análise do quadro 4.3, verificamos que as únicas informações solicitadas na RDC nº55/2010 para os parâmetros vetor de expressão e célula hospedeira são a descrição da cepa/linhagem da célula hospedeira e a descrição do vetor de expressão. Informações importantes críticas a segurança do produto como, por exemplo, descrição da patogenicidade e informações relacionadas ao risco biológico, não fazem parte dos requerimentos. Já para o sub-parâmetro célula transformada, foi possível observar alguma semelhança entre os requisitos propostos e a RDC nº55/2010, já que em ambos os casos são considerados parâmetros como a sequência do gene clonado e estabilidade genética do vetor na célula hospedeira. Ao comparar numericamente os requisitos expostos na atual regulamentação e os requisitos propostos, verificamos um acréscimo de 14 itens, mostrando um maior detalhamento dos parâmetros relacionados vetor de expressão e célula hospedeira.

Ao observar as informações relativas a Sistema de Banco de Células no quadro 4.4, verificamos que a RDC nº55/2010, solicita apenas a descrição dos bancos mestre e de trabalho, estabilidade, e a descrição do controle de qualidade durante a confecção dos bancos. Importantes parâmetros como impacto na segurança do produto, que podem ser oriundos da caracterização do “*Master Cell Bank*” por marcadores genotípicos e fenotípicos, testes para comprovação da identidade e informações sobre os substratos, incluindo testes específicos para detecção de agentes adventícios não constam na RDC.

Ao comparar numericamente os requisitos aplicáveis a Banco de Células expostos na RDC nº 55/2010, os requisitos propostos, observamos um acréscimo de 13 itens.

No quadro 4.5 sobre requisitos aplicáveis a meio de cultura e outros materiais, foi possível perceber um maior alinhamento em comparação com os itens anteriormente expostos, uma vez que em ambos os casos, são requeridos a comprovação de que o material é livre de encefalopatia espongiforme transmissível e a avaliação dos agentes adventícios. No entanto, percebemos uma fragilidade na RDC Nº 55/2010, em relação a solicitação de comprovação da qualidade dos materiais utilizados, na solicitação de utilização de metodologias capazes de detectar agentes adventícios e no controle e meia vida dos ingredientes do meio, uma vez que não há na referida resolução orientações a respeito desses itens. Numericamente houve um acréscimo de 5 itens em relação aos requisitos expostos na atual regulamentação.

Na comparação entre os requisitos aplicáveis a processo produtivo apresentado no quadro 4.6, foram observadas algumas lacunas, uma vez que a RDC nº 55/2010, coloca

que o fabricante deverá descrever o processo, sem considerar as especificidades dos diferentes tipos de cultivos. O mesmo é observado no caso dos controles em processo, onde a agência estabelece apenas que estes devem ser apresentados, e não coloca suas expectativas em relação as informações que deseja receber do fabricante, para este parâmetro, observamos um acréscimo de 30 itens, em relação ao exposto na atual regulamentação.

Percebe-se nitidamente que a regulação sanitária dos produtos biológicos evoluiu de forma considerável desde a publicação da RDC 80/2002, passando pela RDC 315/2005 e culminado na RDC 55/2010. O marco regulatório dos produtos biológicos está bem desenvolvido, no entanto para completar a regulação sanitária desses produtos a elaboração de guias específicos para cada uma das categorias de produto tem sido uma escolha feita pela ANVISA para a harmonização das legislações com as demais Agências Internacionais. Logicamente existe espaço para uma nova revisão e a inclusão de requisitos mínimos não só para o registro de anticorpos monoclonais, mas também para proteínas terapêuticas em geral, uma vez que observamos algumas lacunas na regulamentação brasileira. Ao comparar numericamente os requisitos propostos com aqueles já estabelecidos pela atual RDC nº55/2010, verificamos que aproximadamente 72% dos itens apontados neste trabalho não são cobertos pela Resolução , o que abre um precedente de discussão não só pelos produtores, como pela categoria de classe da indústria farmacêutica.

4.4 - Contexto regulatório para proteínas terapêuticas incluindo anticorpos monoclonais para uso terapêutico no âmbito dos biossimilares

Os medicamentos biológicos revolucionaram a abordagem das doenças de tratamento mais complexo, e propiciaram o prolongamento e a melhoria da qualidade de vida de muitos pacientes acometidos de doenças crônicas. Contudo, esta classe de medicamentos apresentam um custo bastante elevado e, em muitos casos, o acesso dos doentes ao tratamento é limitado. Com a expiração de patentes de medicamentos biológicos, surge no mercado espaço para que outras empresas comercializem estes produtos. Emerge, assim, o conceito de medicamento biossimilar e, a ele associado, a competitividade de mercado, bem como uma maior acessibilidade por parte dos doentes.

Com isto o tema biossimilares está sendo amplamente discutido por ARs, indústrias e Associações. Se por um lado o término de diversas patentes associado ao alto

valor agregado dessas moléculas, vem despertado a atenção de fabricantes de diversos lugares do mundo, por outro as ARs vem trabalhando arduamente no estabelecimento de requisitos que garantam a segurança do paciente. Podemos citar como exemplo o “*Guidelines on Similar Biologic: Regulatory Requirements for Marketing Authorization in India*” publicado pela Agência Indiana este ano e o documento “*Draft – Revised Guidance Document Information and Submission Requirements for Subsequent Entry Biologics (SEBs)*” em consulta pública emitido pela *Health Canadá*.

Na avaliação dos guias emitidos pelas diversas agências percebemos que independentemente do surgimento dos biossimilares, regras para comparabilidade de produtos de origem biotecnológica já vinham sendo estabelecidas em função da necessidade dos fabricantes em inserir melhorias em seus processos ou mesmo aumentar a capacidade produtiva através da inclusão de novos locais de fabricação. Neste contexto, o ICH foi pioneiro na apresentação do guia Q5E “*Comparability of Biotechnological / Biological Products Subject to Changes in their Manufacturing Process*” para avaliação de comparabilidade considerando o impacto das mudanças nos atributos críticos de qualidade. É importante mencionar que apesar desse Guia não ter seu foco voltado para biossimilares, ele foi essencial para a construção do marco regulatório e até hoje é utilizado como referência em diversos países.

No cenário dos biossimilares e mAbs originais, a complexidade das moléculas, a variabilidade dos processos e a incerteza estarão sempre presentes, na concessão de um registro. Sendo assim na tentativa de minimizar riscos a ANVISA publicou o documento “*Guia para Realização do Exercício de Comparabilidade para Registro de Produtos biológicos*” onde foco foi esclarecer os requisitos regulatórios para o exercício de comparabilidade no que diz respeito aos critérios de qualidade do produto, necessários para o registro pela via de desenvolvimento por comparabilidade. O documento também poderá ser utilizado na comparabilidade no caso de alterações pós registro, no entanto apesar de possuir uma série de requisitos voltados para caracterização, não há informações específicas para o registro de mAbs biossimilares (Brasil, 2011b).

Sobre a questão da comparabilidade no contexto das alterações pós-registro (RDC nº49/2011) e registro de produto biológico (biossimilares) RDC nº55/2010, após o estabelecimento do comparador, comprovação da biossimilaridade e obtenção do registro, os produtos passam a ter seus próprios ciclos de vida separadamente. Sendo assim, alterações realizadas no comparador não serão necessariamente introduzidas no

biossimilar e vice-versa. A EMA em seu documento “*Guideline on similar biological medicinal products*” declara que não existem requerimentos para repetir a demonstração de biossimilaridade em relação ao medicamento de referência (ex: alteração do processo de fabricação) uma vez que o registro seja concedido para o biossimilar (EMA, 2012a).

Uma das questões essenciais em debate refere-se a possibilidade da intercambiabilidade de diferentes medicamentos biológicos ser eventualmente efetuada sem o conhecimento do médico prescritor e do paciente. Especialmente em oncologia (grande parte dos mAbs são voltados para o tratamento de doenças oncológicas), a administração endovenosa de mAbs, a maior imunossupressão comparativamente a outras áreas terapêuticas, ou mesmo a natureza quimérica ou humanizada dos anticorpos, reduzem o impacto imunogênico destes medicamentos. Apesar disso, existe sempre algum risco de segurança para o paciente, caso ocorra a intercambiabilidade entre o medicamento de referência e o biossimilar sem um rigoroso controle e supervisão médica.

O tema intercambiabilidade vem sendo tratado de diferentes maneiras pelas agências. Na Europa, esta questão não é centralizada pela EMA como ocorre no caso da autorização da licença de comercialização, ficando a critério de cada país decidir se o biossimilar já registrado pela EMA, poderá ser intercambiável ou não. A França foi pioneira ao regulamentar a intercambiabilidade, dentro dos critérios estão a avaliação do médico e se o paciente já iniciou o tratamento com outro medicamento (Thimmaraju et al, 2015).

O FDA possui uma abordagem diferente sobre o tema, uma vez que estabelece duas diferentes classes, biossimilar e intercambiável, essa classificação foi estabelecida em 2010 através de um aditamento na regulamentação de serviço e saúde pública, neste caso, o produto classificado como intercambiável apresentou dados adicionais de segurança comprovando que a substituição do medicamento de referência pelo respectivo biossimilar não oferece riscos adicionais ao paciente, tendo assim a substituição automática aprovada (Thimmaraju et al, 2015)

No Brasil, o tema intercambiabilidade permanece indefinido. É importante considerar, que o primeiro biossimilar foi registrado na ANVISA em abril/2015, trata-se do Remsima (influximab), registrado pela empresa Hospira, uma líder global no mercado de biossimilares. O medicamento possui uma previsão de preço 35% menor do que o inovador e já havia sido registrado como biossimilar na Europa e no Canadá.

No Brasil, o registro foi concedido pela via de comparabilidade, através de um pacote robusto de dados comparativos e a apresentação de um estudo clínico de fase III que envolveu 606 pacientes, demonstrando resultados melhores no tratamento de artrite reumatoide quando comparado ao próprio medicamento referência Remicade. O registro do primeiro biossimilar no Brasil teve repercussão internacional e foi considerado um marco para agência brasileira (Hospira, 2015).

Dentro de pouco tempo, o aumento do número de mAbs disponíveis com preços mais acessíveis, levará pacientes e indústrias a pressionar a Agência Nacional sobre uma definição no tema, trazendo a necessidade no estabelecimento de critérios mais robustos, para garantir segurança na decisão sobre a intercambiabilidade.

No quadro 4.7, consta como as principais agências vêm tratando diversos temas no âmbito dos biossimilares, incluindo a intercambiabilidade. Como pode ser percebido não há uma harmonização em relação à nomenclatura adotada, enquanto EMA e a China utilizam o termo biossimilar, a OMS prefere ser referir a estes medicamentos como apenas como similar e os EUA utilizam o termo *Follow On Biologics Products*. No que se refere a ANVISA, desde o início das discussões sobre as moléculas biossimilares, a agência não se sente confortável em utilizar este termo, sendo assim, em sua última Resolução sobre o tema, definiu o termo produto biológico não novo.

Observamos que os documentos mais recentes já mostram que as agências estão chegando a um consenso em relação a algumas diretrizes para o registro dos biossimilares, um exemplo é a seleção do produto de referência como aquele aprovado com base em um dossiê completo de registro e a necessidade de apresentação de um plano de farmacovigilância que considere um plano de minimização de riscos no acompanhamento do uso desses medicamentos após a concessão do registro.

País/Região	Definição	Tema/Utilização	Atividades aplicadas para produtos fitoterápicos				
			Produto de Referência	Regime de Competitividade	Extrapolação de Indicação Terapêutica	Paracomparação	Regime para Intervalo Intermitente
SWO África Internacional	Produtos fitoterápicos similares em termos de qualidade, segurança e eficácia a um produto de referência fitoterápica.	Similar fitoterápico Produtos	Produto registrado com base em um dossiê completo e utilizado como comparador nos estudos de comparabilidade.	Abordagem passo a passo para avaliar similaridade entre o fitoterápico e o produto fitoterápico de referência, baseada pela comparabilidade dos atributos de qualidade, seguida pelas estudos in vitro e pré-clínicos. A avaliação dos dados é feita de acordo com o protocolo de avaliação de similaridade estabelecido e aprovado pelo órgão regulador.	A extrapolação dos dados de segurança e eficácia de uma indicação clínica particular entre indicações clínicas pode ser possível se: 1) O dossiê de todo o produto é capaz de fornecer evidências diferenciadas; 2) Mecanismos de ação são o mesmo comparáveis em termos para ambas as indicações clínicas; 3) Segurança e toxicogênese foram suficientemente estudadas; 4) O teste de eficácia utiliza um dossiê de estudos de alta individualidade e demonstra segurança e eficácia aceitáveis.	Comparativamente grande nível de controle regulatório para os produtos novos. Um estudo de caso de atividade toxicológica fitoterápica deve fazer um plano de monitorização de risco.	Sem definição
EMA África Internacional União Europeia	Medicamentos biológicos similares a outro medicamento biológico que tenha sido autorizado para o uso.	Similaridade	Produto registrado pela EMA com base em um dossiê completo.	A extrapolação dos estudos toxicológicos para demonstrar comparabilidade depende da natureza do produto, dependência de estudos toxicológicos para detectar potenciais diferenças, da relação entre os atributos de qualidade e a segurança e eficácia baseada na especificidade clínica e não clínica e o ponto crítico de controle no processo de fabricação que afeta as características do produto.	Avaliação de extrapolação é realizada caso a caso.	Plano de gerenciamento de risco para farmacovigilância. A segurança clínica deve ser monitorizada fortemente após a aprovação do registro.	Decisão de intercambiabilidade entre os fitoterápicos e os biológicos de referência é uma decisão individual de cada país e não da EMA.
FDA Estados Unidos	Um medicamento biológico altamente similar ao produto de referência, sendo possível diferença sob certas condições clínicas.	Follow-On Biologics Products	Produto registrado com base em um dossiê completo.	Existem duas abordagens para avaliação de comparabilidade: 1) Comparação entre o produto proposto e o produto de referência passo a passo; 2) Apresentação de dados completos, incluindo estudos clínicos.	Avaliação de extrapolação é realizada caso a caso.	Avaliação dos riscos existentes e estratégia de mitigação para o produto fitoterápico.	Existem duas classificações: Intercambiabilidade e Similaridade. Para ser considerado intercambiável o fabricante deve apresentar estudos clínicos mais robustos.
Health Canada Canadá	Um produto biológico que contém um componente ativo cujo produto referência aprovado, e que demonstra similaridade ao produto de referência.	Subsequent Entry Biologics	Produto registrado com base em um dossiê completo e utilizado como comparador nos estudos de comparabilidade.	A extrapolação dos estudos toxicológicos para demonstrar comparabilidade depende da natureza do produto, dependência de estudos toxicológicos para detectar potenciais diferenças, da relação entre os atributos de qualidade e a segurança e eficácia baseada na especificidade clínica e não clínica e o ponto crítico de controle no processo de fabricação que afeta as características do produto.	A avaliação para a extrapolação de indicações clínicas depende do racional usado.	Um plano de gerenciamento de risco deve ser apresentado antes do início de estudos de autorização de comercialização, e deve incluir informações sobre segurança, toxicogênese e imunogenicidade.	A Agência Canadiana não declara intercambiabilidade entre biológicos e fitoterápicos. A decisão fica a cargo do médico.
CEMED Chile	Produtos biológicos produzidos por métodos biotecnológicos, cujo o DNA possui sequências, perfil de expressão e eficácia comparáveis à EPA de produtos biológicos de referência registrados em Chile em um caso para os seguintes usos: terapêuticos, diagnósticos, vacinas, infusão, injeção, administração intravenosa, administração intramuscular e injeção de produto biológico de referência.	Produtos biológicos comparados comparados	Profissionalmente registrado em Chile. Em alguns casos serão feitos produtos de referência registrados por autoridade, considerando de referência em caso de necessidade expertise em produtos biológicos.	Testes comparativos de qualidade conduzindo-se EPA de estudos de produtos biológicos. Determinação das propriedades farmacológicas, características biológicas, e o perfil de toxicogênese, segurança e imunogenicidade, sendo como outros que incluem considerações especiais. Justificas as diferenças justificadas.	Não há caso em que o dossiê de estudo seja tão completo, será aprovado o registro estável para a indicação principal de acordo com o medicamento de referência utilizado nos estudos. A aprovação de outros estudos será realizada apenas quando o estudo clínico for baseado em um dossiê completo e o estudo for realizado considerando os demais indicadores.	Após a aprovação, o fabricante deverá apresentar o Relatório Anual de Produto e a seguir informações de segurança.	Em discussão
ANVISA Brasil	Medicamentos biológicos são aqueles em condições que possam ser avaliados com eficácia biológica comparável, já registrado no Brasil e que tenha passado por testes de fabricação (fabricação, testes, identificação, rotulagem, embalagem, armazenamento, controle de qualidade e liberação de lote de produto biológico para uso).	Produtos biológicos Não Novo	Produtos biológicos já registrados na ANVISA com base na submissão de um dossiê completo, e que já tenha sido comercializado no País.	Estudo consultivo com demonstração de comparabilidade, incluindo informações relevantes para produtos em se diferenças detectadas nos atributos de qualidade resultam em impacto sobre a segurança e eficácia do produto biológico.	A extrapolação de dados de segurança será realizada por meio de testes específicos. O estudo de todo o produto será realizado para a comparação de segurança e eficácia dos testes de dados diferenciados, no entanto, para o produto de referência em termos de segurança e eficácia, os dados de segurança e eficácia de produtos biológicos.	Plano de Farmacovigilância incluindo plano de gerenciamento e estratégia de risco.	Atende em discussão sobre avaliação de intercambiabilidade, controle e posicionamento atual é que o produto apenas está considerado intercambiável caso seja demonstrado estudos clínicos para cada fitoterápico.
CFDA Coreia do Sul	Produtos biológicos que contêm um componente ativo em termos de qualidade, segurança e eficácia a um produto de referência.	Similaridade	Produto utilizado para demonstrar comparabilidade com um fitoterápico aprovado de dados de qualidade, estudos clínicos e não clínicos.	Mesmo abordagem utilizada pela EMA	Avaliação de extrapolação é realizada caso a caso.	Os dados de segurança devem ser compartilhados para avaliar segurança do biológico.	Não há posicionamento sobre o tema
CFDA China	Produtos biológicos a um produto de referência aprovado na China em um qualquer caso legal em qualidade, segurança e eficácia. O fitoterápico deve ter a mesma segurança de fabricação do produto de referência.	Similaridade	O produto de referência deve ser aprovado na China no momento em que os estudos clínicos foram iniciados. O produto de referência não necessariamente precisa ser o mesmo.	As empresas devem submeter lista representativa de produtos como amostras para testes comparativos. Diferenças de qualidade entre cada amostra são avaliadas.	A extrapolação de indicações clínicas caso a caso é feita em base em dados apropriadamente relacionados que foram suficientemente estudados em estudos clínicos. A segurança e imunogenicidade em relação de indicações clínicas devem ser suficientemente avaliadas.	Deve ser apresentado um plano de gerenciamento de risco para farmacovigilância para avaliação de segurança e imunogenicidade.	Não há posicionamento sobre o tema
TGA Austrália	Medicamentos biológicos similares a outro medicamento biológico que tenha sido autorizado para o uso.	Similar biológico medicinal product	Deve ser aprovado em Austrália e comercializado por um tempo suficiente de tempo a ser dados de segurança e eficácia.	A extrapolação dos estudos toxicológicos para demonstrar comparabilidade depende da natureza do produto, dependência de estudos toxicológicos para detectar potenciais diferenças, da relação entre os atributos de qualidade e a segurança e eficácia baseada na especificidade clínica e não clínica e o ponto crítico de controle no processo de fabricação que afeta as características do produto.	A avaliação para a extrapolação de indicações clínicas depende do racional usado.	Mesmas regras aplicadas a produtos biológicos ativos. Deve ser apresentado um plano para avaliação e estratégia de risco clínicos.	Não é possível a intercambiabilidade
PMDA Japão	Um medicamento biotecnológico comparado a um medicamento já registrado.	Follow-On Biologics	Produto registrado no Japão com base em um dossiê completo e utilizado como comparador nos estudos de comparabilidade.	A extrapolação dos estudos toxicológicos para demonstrar comparabilidade depende da natureza do produto, dependência de estudos toxicológicos para detectar potenciais diferenças, da relação entre os atributos de qualidade e a segurança e eficácia baseada na especificidade clínica e não clínica e o ponto crítico de controle no processo de fabricação que afeta as características do produto.	A submissão para a extrapolação de indicações clínicas depende da comparabilidade de eficácia demonstrada para cada indicação.	Estudo segurança clínica pelo comercializador deve ser realizado continuamente.	A decisão fica a cargo do médico.
CDSCO Índia	Produtos similares em termos de qualidade, segurança e eficácia a um produto biológico de referência aprovado com base em comparabilidade.	Similar biológico	Produto registrado no Índia ou em alguns país pertencente ao ICH com base em um dossiê completo.	A demonstração de comparabilidade depende do nível de caracterização, conhecimento do produto e estudos pré-clínicos e clínicos realizados. Dependendo dos resultados de comparabilidade dos dados de comparabilidade analítica pré-clínicos, o fabricante poderá ser incentivado a realizar um estudo clínico pré-comercialização em um caso específico de aprovação de registro.	A extrapolação dos dados de segurança e eficácia de uma indicação clínica particular entre indicações clínicas pode ser possível se: 1) O dossiê de todo o produto é capaz de fornecer evidências diferenciadas; 2) Mecanismos de ação são o mesmo comparáveis em termos para ambas as indicações clínicas; 3) Segurança e toxicogênese foram suficientemente estudadas; 4) O teste de eficácia utiliza um dossiê de estudos de alta individualidade e demonstra segurança e eficácia aceitáveis.	Plano de farmacovigilância abrangente para avaliar a segurança clínica em todos as indicações aprovadas no caso de pré-comercialização. O plano de farmacovigilância deve incluir o planejamento de estratégias periódicas de segurança e serem apresentados a cada seis meses durante os primeiros dois anos.	Sem definição

Quadro 4.7 Quadro comparativo sobre como as principais Agências regulamentares abordam o tema Intercambiabilidade

Outra questão observada, que ainda permanece em discussão é a extensão dos estudos clínicos a serem realizados.

No caso de novos registros de mAbs, não há dúvida quanto à necessidade de realização desses estudos, mas quando a discussão inclui comprovação de biossimilaridade, apesar de não haver uma harmonização em relação as regras, é possível perceber que há um consenso de que os estudos a serem realizados dependerão do grau de conhecimento da molécula e capacidade do fabricante em mapear e comparar os atributos críticos de qualidade, comprovando que possíveis e pequenas alterações não terão impacto na segurança e eficácia do produto.

A ANVISA, através da RDC nº55/2010, segue essa abordagem na via individual para registro. No entanto, cabe mencionar que ao mesmo tempo que a referida agência segue uma abordagem em que extensão de informações técnicas e capacidade de comparar atributos críticos de qualidade são prerrogativas para estabelecer a extensão dos estudos pré-clínicos e clínicos que deverão ser realizados, falta na regulamentação, o detalhamento das informações técnicas a serem apresentadas.

Nesse sentido, a proposta de itens específicos de produção e controle, pode ajudar a preencher essa lacuna na regulamentação brasileira também no caso do registro de produtos biológicos não novos, em especial para mAbs.

As principais indefinições regulatórias são ocasionadas pela necessidade de garantir a segurança do produto, devido a este fato é percebido que as agências têm concentrado muitos esforços no assunto imunogenicidade, reação muito comum a medicamentos de origem biológica que pode ser induzida pela substância ativa do medicamento, a partir de impurezas provenientes do processo de fabricação, alteração da estrutura molecular, via de administração ou a fatores intrínsecos ao paciente (Dranitsaris at al, 2011).

Os mAbs podem ter um número grande de indicações terapêuticas, e existem relatos que associam o uso desses produtos a reações adversas graves.

A EMA em particular possui um guia específico para tratar de imunogenicidade de mAbs, o *Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended*

for in vivo clinical use publicado em 2012 sugere uma abordagem baseada em análise de riscos onde para identificação do risco são consideradas informações sobre estrutura, fatores clínicos e o conhecimento prévio da molécula (EMA, 2012b).

No caso do Brasil, a RDC nº55/2010 estabelece que independentemente da via de desenvolvimento utilizada, no ato do protocolo do pedido de registro de um produto biológico a empresa deverá apresentar o relatório do estudo de imunogenicidade.

Este é mais um caso onde a agência brasileira demonstra alinhamento aos requisitos praticado internacionalmente. No entanto assim como já observado anteriormente para outros parâmetros, como por exemplo produção e controle, faltam considerações específicas sobre como os fabricantes devem apresentar esses estudos de forma a atender as expectativas da agência e por consequência evitar o recebimento de inúmeras exigências e acelerar a obtenção do registro.

Além da abordagem clínica e das metodologias de controle de qualidade que cada vez mais devem ser capazes de identificar mudanças mínimas ao analisar e comparar moléculas inovadoras e biossimilares, existe uma ferramenta de qualidade chamada “*Quality by Design*” que tem se mostrado eficiente, na medida em que atua no estabelecimento da determinação do “*Design of Space*”. Este se refere ao estudo aprofundado usando ferramentas estatísticas para determinar o espaço em que pequenas mudanças podem ocorrer sem impacto nos atributos críticos de qualidade.

O “*Quality by Design*” é proposto no documento ICH “*Pharmaceutical Development Guia Q9*”, como uma abordagem sistemática que enfatiza o entendimento sobre o quanto uma alteração nos materiais ou processo irão afetar o produto final, sempre tendo em mente que um produto deve ser desenhado para atender as necessidades do paciente.

A ferramenta tem sido explorada por diversos fabricantes, não só na questão dos biossimilares, mas como algo que gera um conhecimento profundo do processo trazendo segurança quando há necessidade de introdução de melhorias e facilitando a discussão com a Agência Regulatória.

Como pode ser percebido, ainda existem muitas questões em aberto para o tema biossimilar, as quais precisarão de inúmeras discussões e também harmonização dos critérios estabelecidos entre as agências.

Ao longo desse trabalho, foi possível perceber que a ANVISA está alinhada com as diretrizes adotadas pelas principais agências, apresentando lacunas apenas na orientação em relação ao como os fabricantes irão cumprir com os requisitos propostos. Nesse sentido entendemos que esse trabalho poderá ajudar no que se refere aos parâmetros de produção de controle de mAbs independentemente se são produtos biológicos novos ou não novos.

4.5 – Discussão Geral

Notoriamente os medicamentos biológicos ou biotecnológicos, possuem um grau de complexidade muito maior que os medicamentos de síntese química, principalmente por serem derivados proteicos e a sua função depende da sua conformação estrutural que é influenciada por vários fatores.

Desta forma é de se esperar ligeiras diferenças entre produtos originais e os biossimilares, intrínsecas aos processos de manufatura. No entanto, com a expiração das patentes de muitos medicamentos biológicos, principalmente dos mAbs como alternativa para tratamento de diversas doenças, existe a necessidade de instrumentos regulatórios mais específicos e que acompanhem as inovações do setor para orientar fabricantes, facilitar as análises de solicitação de registro pelo ente regulador e garantir a segurança em relação ao uso clínico.

Ao longo deste trabalho, foi possível verificar que a ANVISA possui diretrizes alinhadas àquelas praticadas pelas principais Agências Internacionais que lideram os conceitos, critérios, guias e normativas, entretanto ainda existem lacunas em relação a forma como essas diretrizes devem ser trabalhadas, para o cumprimento dos itens estabelecidos pela RDC n°55/2010.

Durante a análise dos documentos das Agências Internacionais (ICH, OMS e EMA) e países que fizeram parte dessa pesquisa, foi percebido que assim como ocorre na ANVISA atualmente, não existem muitos guias aplicáveis a mAbs inovadores. Normalmente os requisitos de produção são aqueles mesmos aplicáveis aos produtos de origem biotecnológica onde os principais conceitos foram inicialmente estabelecidos pelo ICH na década de 90, e adaptado e incorporados por agências com a EMA e o FDA, mostrando uma necessidade de atualização dessas normas para englobar novas tecnologias.

Os guias existentes específicos para anticorpos monoclonais para uso terapêutico são voltados para caracterização e estudos de imunogenicidade dessas moléculas conforme observado no documento publicado pela EMA “*Guideline on Immunogenicity Assessment of Monoclonal Antibodies Intended for in Vivo Clinical Use*” e o documento colocado em consulta pública pela OMS este ano “*Guidelines for assuring the quality of monoclonal antibodies for use in humans*”.

A publicação de guias específicos como estes é primordial, uma vez que, tem impacto direto na avaliação da segurança desses produtos na fase laboratorial, na comparabilidade entre moléculas e capacidade de detectar pequenas diferenças.

A ênfase dada pelas Agências Internacionais nas questões de caracterização e imunogenicidade reflete a preocupação em relação a segurança dos mAbs. No que se refere aos biossimilares, espera-se um aumento na submissão das solicitações de registro em função do término das patentes dos medicamentos inovadores e perspectiva de um mercado promissor impulsionado pelo quadro epidemiológico, preços mais acessíveis e iniciativas governamentais para disponibilização desses medicamentos para a população.

Diante desse cenário, podemos dizer que as ARs possuem um grande desafio, pois ao mesmo em que tempo precisam rever regulamentações já estabelecidas de forma a incorporar o avanço tecnológico devem iniciar novas discussões a respeito de itens que ainda permanecem sem definição como ocorre com a questão da intercambiabilidade e a definição do “*International Non Proprietary Name*”.

Requisitos clínicos não foram abordados nesse trabalho. No entanto existe um consenso entre as agências, onde no caso de produtos inovadores estudos clínicos sempre serão necessários e no caso de biossimilares, seja ele monoclonal ou não, a extensão dos estudos será determinada pela capacidade do solicitante em demonstrar comparabilidade entre as moléculas. Nesse sentido, este trabalho poderá contribuir neste cenário de incertezas e avanços tecnológicos ao propor requisitos específicos para produção e controle de anticorpos monoclonais para uso terapêutico.

5. CONCLUSÃO

A proposta de requerimentos de produção e controle para registro sanitário de mAbs para uso terapêutico é um passo importante para a compreensão e obtenção de conhecimento acerca dessas moléculas tanto no contexto de medicamentos inovadores como biossimilares. Sendo assim ao final deste trabalho foi possível:

- a) Demonstrar que os fundamentos do Diagrama de Ishikawa é uma ferramenta eficiente na sistematização de informações, que permite agrupar e visualizar as regulamentações das Agências Internacionais EMA, ICH e OMS, onde a partir do conjunto de parâmetros e sub-parâmetros obtidos foi possível elaborar uma análise comparativa.
- b) Absorver informações robustas da base de dados Thomson Reuters, módulo de Inteligência Regulatória Cortellis, através da qual foi possível mapear o ambiente regulatório global para registro de anticorpos monoclonais para uso terapêutico e identificar os documentos publicados por Agências Regulatórias de diferentes países além das Agências Internacionais.
- c) Propor um conjunto de requerimentos de produção e controle fundamentais para o registro de anticorpos monoclonais para uso terapêutico, complementares as diretrizes estabelecidas, onde 220% dos itens propostos não constam na atual RDC n°55/2010.
- d) Confirmar que a EMA, o ICH e a OMS influenciam fortemente na construção dos marcos regulatórios de diversas Agências Regulatórias inclusive o FDA e a Health Canadá e ANVISA
- e) A obtenção de um conhecimento vasto sobre o tema, o que nos permitirá apoiar o Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio-Manguinhos nas discussões e antecipação do marco regulatório para anticorpos monoclonais no âmbito dos Biossimilares. Nesse contexto cabe ressaltar o protagonismo do Instituto nas Parcerias Público Privadas, que além de outros produtos biológicos, está desempenhando um importante papel na transferência de tecnologia de anticorpos monoclonais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aaron LN, Dhimolea E, Reichert JM. **Development trends for human monoclonal antibody therapeutics.** Nature Reviews. Drug Discovery. [online]. 2010 [capturado em 30 jun 2016]. Disponível em: <http://www.nature.com/nrd/journal/v9/n10/pdf/nrd3229.pdf>

Abbas AK, Lichtman AHH, Pillai S. **Imunologia Celular e Molecular.** 7a ed. Brasil: Elsevier; 2012.

Abrahão Andre, MD. **Intercambialidade Biossimilares.** 2015, 9º Enifarmed Encontro Nacional de Inovação em Fármacos e Medicamentos

AL-Sabbagh A, Olech, E, McClellan JE, Kirchoff CF. **Development of biosimilars.** Seminars in Arthritis and Rheumatism, 2016; 45: S11–S18.

Amgen Inc. **Biosimilar Trends in 2016- Report Our Next Chapter in Healthcare** [online]. Califórnia, 2016. [capturado 15 jun 2016]. Disponível em: http://www.amgenbiosimilars.com/~media/amgen/full/www-amgenbiosimilars-com/downloads/2016_trends_in_biosimilars_report.ashx?la=en

Antitope. Abzena Company. **Protein Desimmunization.**[online]. 2016 [capturado em 16 jun 2016]. Disponível em: <http://www.antitope.com/protein-deimmunisation>

Argentina. Ministerio de SaludSecretaría de Políticas, Regulación e Institutos ANMAT. **Decreto 7129** [online]. 2011 [capturado em 21 abr 2016]. Disponível em: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/retiros/noviembre/Disposicion_7729-2011.pdf

Argentina. Ministerio de SaludSecretaría de Políticas, Regulación e Institutos ANMAT. **Decreto 3397** [online]. 2012 [capturado em 21 abr 2016]. Disponível em: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/Legislacion/Medicamentos/Disposicion_3397-2012.pdf

Australia. Department of Health and Drug Therapeutic Goods Administration. **European Union guidelines published adopted in Australia** [online]. 2016 [capturado em 15 jun 2016]. Disponível em: <https://www.tga.gov.au/biological-medicines-guidelines>

Azevedo VF, Mysler E, Álvarez AA, Hughes J, Murrieta FJF, Castilla EMR. **Recomendaciones para la reglamentación de biosimilares y suimplementación em Latinoamérica.** Generics and Biosimilars Initiative Journal (GaBI Journal), 2014; 3 (3): 143-8.

Bareta GMS. **Garantia de Qualidade em Farmácia Hospitalar**. Belo Horizonte: FHEMIG; 1994; p. 47.

Birch JR, Racher AJ. **Antibody production**. *Advanced Drug Delivery Rev*, 2006; 58: 671–85.

Brasil. **Constituição da República Federativa do Brasil de 1998** [online]. Brasília, DF: 1988 [capturado em 16 jun 2016]. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constituicaocompilado.htm

Brasil. Ministério da Saúde. **Lei 12.401**. Brasília, DF: 2011.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada N° 80. **Regulamento Técnico de Registro, Alterações e Inclusão Pós-Registro e Revalidação dos produtos Biológicos**. Brasília, DF: 2002.

_____. Resolução de Diretoria Colegiada N° 315. **Regulamento Técnico de Registro, Alterações Pós-Registro e Revalidações dos Produtos Biológicos Terminados**. Brasília, DF: 2005.

_____. Resolução de Diretoria Colegiada N° 55. **Dispõe sobre o registro de produtos biológicos novos e produtos biológicos e dá outras providências**. Brasília, DF: 2010.

_____. Resolução de Diretoria Colegiada N° 49. **Dispõe sobre a realização de alterações e inclusões pós-registro, suspensão e reativação de fabricação e cancelamentos de registro de produtos biológicos e dá outras providências**. Brasília, DF: 2011a.

_____. **Guia para realização do exercício de comparabilidade para registro de produtos biológicos**. Brasília, DF: 2011b.

_____. Resolução de Diretoria Colegiada N° 69. **Dispõe sobre Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos Ativos**. Brasília, DF: 2014.

Casanova Estruch, B. **Safety profile and practical considerations of monoclonal antibody treatment**. *Neurologia*, 2013; 28, pp. 169-178.

Castanheira LG, Barbano DBA, Rech N. **Current development in regulation of similar biotherapeutic products in Brazil**. *Biologicals*, 2011 Set; 39 (Suppl 5): 308–11.

Chadd HE, Chamow SM. **Therapeutic Antibody Expression Technology**. *Curr Opin Biotechnol*, 2001; 12 (2): 188-94.

China. Chinese Food and Drug Administration. **Provisions for Drug Registration (SFDA Order No. 28)** [online]. 2007 [capturado em 30 de out. 2015]. Disponível em: <http://eng.sfda.gov.cn/WS03/CL0768/61645.html>

China. Chinese Food and Drug Administration. **Chinese guidelines for biosimilars**[*online*]. 2015 [capturado em 20 de nov 2015]. Disponível em: <http://gabionline.net/Guidelines/Chinese-guidelines-for-biosimilars>

Ciola R. **Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho – HPLC**. Edgard BlücherLtda; 1998.

Colômbia. Ministerio de Salud y Protección Social. **Decreto 1782**. [*online*]. 2014 [capturado em 15 jun 2016]. Disponível em: https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Decreto%201782%20de%202014.pdf

Cruz FT. **Expressão em Fagos ("Phage Display") de Anticorpos Monoclonais Contra o Circovírus Suíno Tipo 2 Para a Aplicação em Técnicas Sorológicas (Elisa - "EnzymeLinkedImmunosorbentAssay" – e Imunoperoxise)**[tese]. São Paulo: Universidade Estadual Paulista; 2010.

Cuba. Ministerio de Salud Pública. **Resolución Ministerial No. 321**[*online*]. 2009 [capturado em 19 jun 2016]. Disponível em: http://www.CECMED.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/Res_MINSAP-321-09.pdf

Cuba. Ministerio de Salud Pública. **Resolución CECMED No. 56/2011: Requisitos para el registro de productos biológicos conocidos** [*online*]. 2011 [capturado em 19 jun 2016]. Disponível em: http://www.CECMED.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/reg_56-11_requisitos_para_el_registro_de_productos_biologicos_conocidos.pdf

Dean C, Shepherd P. **Monoclonal Antibodies: A Practical Approach**. United Kingdom: Oxford University Press; 2000.

Delduque, MC. **Temas Atuais de Direito Sanitário**. Ministério da Saúde e Fundação Oswaldo Cruz. Brasília; 2009.v1.

Dranitsaris G, Amir E, Dorward K. **Biosimilars of Biological Drug Therapies Regulatory, Clinical and Commercial Considerations**. Current Opinion. [*online*]. 2011 [capturado em 30 jun 2016]. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.2165%2F11593730-000000000-00000>

Doig RA, Ecker DM, Ransohoff TC. **Monoclonal Antibody Targets and Indications**. [*online*]. 2015. [capturado em 26 jul 2016]. Disponível em: <http://www.gabionline.net/Sponsored-Articles/Legislations-on-biosimilar-interchangeability-in-the-US-and-EU-developments-far-from-visibility>

C, Landim A, Pieroni JP. **Lições da Experiência Internacional e Propostas para Incorporação da Rota Biotecnológica na Indústria Farmacêutica Brasileira** [*online*]. 2010 [capturado em 20 fev. 2015]. Disponível em: http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/onhecimento/bnset/set3401.pdf

Etcheverrigaray M, Kratje R, Castilho LR. **Tecnologia do Cultivo de Células Animais de - Biofármacos a Terapia Gênica**. Brasil: Roca; 2008; 321-39.

European Medicines Agency (EMA). **Guidelines on similar biological medicinal products**. [online]. Europa, 2015 [capturado em 10 jun 2016]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/10/WC500176768.pdf

_____. **Guidelines on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance; non clinical and clinical issues** [online]. Europa, 2015 [capturado em 10 jun 2016]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/01/WC500180219.pdf

_____. **Guidelines on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance; quality issues (revision 1)**[online].Europa, 2014 [capturado em 15 jun 2016]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/06/WC500167838.pdf

_____. **Guideline on similar biological medicinal products containing monoclonal antibodies** [online]. Europa, 2012a [capturado em 15 jun 2016]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/06/WC500128686.pdf

_____. **Guideline on Immunogenicity Assessment of Monoclonal Antibodies Intended for in Vivo Clinical Use** [online].Europa, 2012b [capturado em 15 jun 2016]. Disponível em:http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/06/WC500128688.pdf

Guideline on Development, Production, Characterization and Specification for Monoclonal Antibodies and related products [online].Europa, 2008 [capturado em 15 set 2016]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003074.pdf

Food and Drug Administration (FDA). **Guidance for Industry for the submission of chemistry, manufacturing, and controls information for a Therapeutic recombinant DNA-Derived product or a Monoclonal Antibody Product for in vivo use**. [online]. Estados Unidos, 1996. [capturado em 6 de jun 2016]. Disponível em:<http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/General/UCM173477.pdf>

_____. **Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use**. [online]. Estados Unidos, 1997. [capturado em 7 de jun 2016]. Disponível em:<http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/OtherRecommendationsforManufacturers/UCM153182.pdf>

Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Bio-Manguinhos. **Quem Somos**. [online]. Rio de Janeiro, Brasil; 2016 [capturado 30 jun. 2016]. Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/home/quem-somos>

_____. **A saúde no Brasil em 2030 - prospecção estratégica do sistema de saúde brasileiro: desenvolvimento produtivo e complexo da saúde**[online]. Rio de Janeiro: Fiocruz/Ipea/Ministério da Saúde/Secretaria de Assuntos Estratégicos da Presidência da República, 2013 [capturado em 15 jun 2016]. Disponível em: https://portal.fiocruz.br/sites/portal.fiocruz.br/files/documentos/miolo_saude_brasil_2030.pdf

Gomes MJVM, Reis AMM, Nunam EA. **Ciências Farmacêuticas: Uma Abordagem em Farmácia Hospitalar**. São Paulo: Atheneu; 2006.

Griffiths JB. **Animal Cell Products, Overview**. In: Griffiths JB, editor. Encyclopedia of Cell Technology. London: Academic Press, 1999; 179-221. DOI: 10.1002/0471250570.spi010

Health Canada (HC). **Guidance for sponsors: Information and Submission Requirements for Subsequent Entry Biologicals (SEBs)**. [online] Canadá 2010. [capturado em 15 jun 2016]. Disponível em: http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/alt_formats/pdf/brgtherap/applic-demande/guides/seb-pbu/seb-pbu-2010-eng.pdf

_____. **Draft - Revised Guidance Document Information and Submission Requirements for Subsequent Entry Biologics (SEBs)**. [online] Canadá 2015.[capturado em 15 jun 2016]. Disponível em: http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/alt_formats/pdf/consultation/biolog/submission-seb-exigences-pbu-eng.pdf

Hermeling S, Crommelin DJA, Schellekens H, Jiskoot W. **Structure-Immunogenicity Relationships of Therapeutic Proteins**. Pharmaceutical Research, 2004; 21 (6).

Holliger P1, Hudson PJ. **Engineered antibody fragments and the rise of single domains**. Nat Biotechnol., 2005;23(9):1126-36.

Hospira Inc. **ANVISA Approves First Infliximab Biosimilar in Brazil**. São Paulo, 2015. [capturado 30 jul 2016]. Disponível em: <http://www.prnewswire.com/news-releases/ANVISA-approves-first-infliximab-biosimilar-in-brazil-300092105.html>

International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). **Quality Guidelines**. [online] Geneva 2016. [capturado em 30 jun 2016]. Disponível em: <http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>

_____. **Pharmaceutical Development: Q8 R2**. Geneva: ICH; 2009.

_____. **Comparability of Biotechnological/Biological Products Subject to Changes in their Manufacturing Process: Q5E**. Geneva: ICH; 2004.

_____. **Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals: S6.** Geneva: ICH; 1997.

_____. **Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin: Q5A.** Geneva: ICH; 1996.

_____. **Quality of Biotechnological Products: Analysis of the Expression Construct in Cell Lines Used for Production of r-DNA Derived Protein Products: Q5B.** Geneva: ICH; 1996.

_____. **Quality of Biotechnological Products: Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products: Q5D.** Geneva: ICH; 1996.

_____. **Stability Testing of Biotechnological/Biological Products: Q5C.** Geneva: ICH; 1995.

India. Ministry of Health. **Guidelines on Similar Biologic: Regulatory Requirements for Marketing Authorization in India** [online]. 2016 [capturado em 30 out 2015]. Disponível em: <http://www.cdsc0.nic.in/writereaddata/Proposed%20Guidelines%20for%20Similar%20Biologic%202016.pdf>

_____. **Submission of Clinical Trial Application for Evaluating Safety and Efficacy** [online]. 2015 [capturado em 30 out 2015]. Disponível em: <http://www.cdsc0.nic.in/writereaddata/cdsc0-guidanceforindustry.pdf>

Jeffcoate SL, Corbel MJ, Minor PD, Gaines-Das R, Schild GC. **The control and standardization of biological products.** Proc. Royal Soc. Edinburgh, 1993; 101B: 07-226.

Jain E, Kumar A. **Research review paper Upstream processes in antibody production: Evaluation of critical parameters** [online]. 2007. [capturado em 29 jul 2016]. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0734975007000985/1-s2.0-S0734975007000985-main.pdf?_tid=fd8a2aba-57e4-11e6-9956-00000aacb361&acdnat=1470055350_06726387e474b514c12bd44e6d336adb

Kishioka Y. **Regulatory Framework for Biotherapeutic Products including Similar Biotherapeutic Products** [online]. Malaysia, 2015. [capturado 15 jun 2016]. Disponível em: <https://www.pmda.go.jp/files/000204341.pdf>

Köhler G, Milstein C. **Continuous Cultures of Fused Cells Secreting Antibody of Predefined Specificity.** Nature, 1975; 256: 495-7.

Krauss J. **Recombinant Antibodies for the Diagnosis and Treatment of Cancer.** Molecular Biotechnology 2003; 25: 1-17.

Krishnan A, Mody R, Malhotra H. **Global regulatory landscape of biosimilars: emerging and established market perspectives.** Biosimilars, 2015; 15: 19-32.

Léo P, Galesi ALL, Suazo CAT, Moraes AM, Castilho LR. **Tecnologia do Cultivo de Células Animais - de Biofármacos a Terapia Gênica**. Brasil: Roca; 2008: 15-40.

Luchese, G. **Globalização e regulação sanitária: os rumos da vigilância sanitária no Brasil**. (Doutorado). Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, 329, 2001.

Maranhão AQ, Brígido MM. **Anticorpos Humanizados**. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, 2001; 23.

México. **Norma Oficial Mexicana NOM-257-SSA1-2014:Emmateria de medicamentos biotecnológicos**. Diário Oficial [dos Estados Unidos Mexicanos]. Jueves, 11 diciembre 2014. Segunda Sección, 1.

México. **Mexican guidelines for biocomparables** [online]. 2015 [capturado em 01 de nov 2015]. Disponível em: <http://www.gabionline.net/Guidelines/Mexican-guidelines-for-biocomparables>

Ministério da Saúde. Portal da Saúde. **Ministério da Saúde apresenta para indústria lista de produtos prioritários**. [online]. Brasil, 2014a.[capturado em 29 jul 2016]. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/16106-ministerio-da-saude-apresenta-para-a-industria-lista-de-produtos-prioritarios>

Ministério da Saúde. Portal da Saúde. **Portaria nº 2.888**. [online]. Brasil, 2014b. [capturado em 5 ago 2016]. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/janeiro/06/PORTARIA-N---2.888,%20DE%2030%20DE%20DEZEMBRO%20DE%202014%20-%202001-14%20.pdf>

Ministério da Saúde. 5ª Reunião do Conselho de Competitividade do Complexo da Saúde. **Medicamentos Biotecnológicos Para o SUS: 2ª Geração das Parcerias de Desenvolvimento Produtivo** [online].Brasil, 2013.[capturado em 15 jun 2016].Disponível em: <http://u.saude.gov.br/images/pdf/2014/julho/10/X-Apresenta---o-Carlos-Gadelha-5---GECIS.pdf>

Ministério da Saúde. Seminário Inovação Tecnológica em Saúde no SUS. **Inovação Tecnológica em Saúde e o Complexo Industrial Produtivo no Brasil** [online]. Brasil, 2012.[capturado em 30 jun 2016]. Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/resources/instituto-de_saude/homepage/pdfs/seminario-de-inovacao-material/dr_leonardo_paiva.pdf?attach=true

Ministério da Saúde. **Resolução da Diretoria Colegiada nº 55**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); 2010.

Montaño R, Pujol F. **Anticuerpos Monoclonales de Primera y segunda generación. Aplicaciones Biomedicas**. Academia Biomedica Digital, 2001; 7.

Moraes AM, Castilho LR, Bueno SMA, **Tecnologia do Cultivo de Células Animais - de Biofármacos a Terapia Gênica**. Brasil: Roca; 2008: 289-317.

Orygen Biotecnologia. **Biosimilar Production in Brasil: a pharmaceutical challenge**. I Simpósio Biopharma Brasil 2016, Caracterização de Biomoléculas e Desenvolvimento de Linhagem Celular para Biofármacos. Sindusfarma, São Paulo; 2016

Padlan EA. **Anatomy of the Antibody Molecule**. *Molecular Immunol*, 1994; 31: 169-218.

Philip H, Hudson PJ. **Engineered antibody fragments and the rise of single domains [Review]**. *Nature Biotech*, 2005: 1126 – 36.

Pérez DDPG, Prieto LMR. **Estudio del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* combinado com inactivación térmica, sobre cepas de *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus***. Bogotá; 2007. Graduação [Monografia em Microbiologia Industrial] – Pontificia Universidad Javeriana – Facultad de Ciencias.

Pozzebon M & Freitas HMR. **Pela aplicabilidade – com um maior rigor científico dos estudos de caso em sistemas de informação**. *Revista Administração Contemporânea* 1998; 2 (2).

Rader R. **What is a Generic Biopharmaceutical? Biogenerics? Follow-on protein? Biosimilar? Follow-on Biologics? – Part 1**. *BioProcess International*, 2007 Mar; 1-38.

Reis C, Landim A, Pieroni JP. **Lições da Experiência Internacional e Propostas para Incorporação da Rota Biotecnológica na Indústria Farmacêutica Brasileira** [online]. 2010 [capturado em 20 fev. 2015]. Disponível em: http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/set3401.pdf

Sakurada EY. **As técnicas de Análise dos Modos de Falhas e seus Efeitos e Análise da Árvore de Falhas no desenvolvimento e na avaliação de produtos** [dissertação] Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2001.

Santos RV, Lima PMG, Nitsche A, Harth FM, Melo FY, Akamatsu HT, Lima HC. **Aplicações terapêuticas dos anticorpos monoclonais**. *Rev Bras AlergImunopatol*, 2006; 29: 77-85.

Sena JAD, Goldman MHS. **Plantas Produtoras de Anticorpos**. *Biotecnologia Ciência de Desenvolvimento*, 2001; 23.

Serpieri, F. **Geração de Linhagens de Células Cho Transfectadas com Vetores para Expressão de Anticorpos Monoclonais Humanizados Anti-Determinantes Leucocitários: Anti-Cd3 e Anti-Cd18**[tese]. São Paulo: Instituto Butantã; 2009.

Tamashiro WMSC, Augusto EFP, Castilho LR, Bueno SMA. **Tecnologia do cultivo de células animais - de biofármacos a terapia gênica**. Brasil: Roca; 2008: 403-23.

Vargas MA, Gadelha CAG, Maldonado J, Costa LS, Quental C. **Indústrias de Base Química e Biotecnológica Voltadas para a Saúde no Brasil: panorama atual e perspectivas para 2030** [online]. Saúde Brasil 2030, 2013. 4ª edição [capturado em 15 jan 2016]. Disponível em: [https://saudeamanha.fiocruz.br/sites/saudeamanha.fiocruz.br/files/publicacoes/ASaudeNoBrasilEm2030_V5_Industrias de Base Quimica e Biotecnologica Voltadas para a Saude no Brasil.pdf](https://saudeamanha.fiocruz.br/sites/saudeamanha.fiocruz.br/files/publicacoes/ASaudeNoBrasilEm2030_V5_Industrias_de_Base_Quimica_e_Biotecnologica_Voltadas_para_a_Saude_no_Brasil.pdf)

Venezuela. División Control Nacional de Productos Biológicos. **Norma para registro sanitario y farmacovigilancia de productos bioterapéuticos similares em la Republica Bolivariana de Venezuela.** 2012[online] [capturado em 15 jun 2016]. Disponível em: http://www.inhrr.gob.ve/pdf/rc_pdf/proyecto_de_norma_PBS.pdf

Woodcock J, Griffin J, Behrman R, Cherney B, Crescenzi T, Fraser B, Hixon D, Joneckis C, Kozlowski S, Rosenberg A, Schragger L, Shacter E, Temple R, Webber K, Winkle H. **The FDA's assessment of follow-on protein products: a historical perspective.** Nat Rev Drug Discov. 2007 Jun;6 (6):437-42

World Health Organization (WHO). **Biological Qualifier: An INN Proposal** [online]. Genebra, 2015. [capturado em 16 jun 2016]. Disponível em: http://www.who.int/medicines/services/inn/bq_innproposal201506.pdf.pdf

_____. **Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology - Replacement of Annex 3 of WHO Technical Report Series, No. 814**[online].Genebra,2013. [capturado em 06 jun 2016]. Disponível em: http://www.who.int/biologicals/areas/biological_therapeutics/BIOTHERAPEUTICS_FOR_WEB_22APRIL2010.pdf

_____. **Requirements for the use of animal cells as *in vitro* substrates for the production of biologicals.** Proposed replacement of TRS 878, Annex 1 [online]. Genebra, 2010. [capturado em 16 jun 2016]. Disponível em: http://www.who.int/biologicals/Cell_Substrates_clean_version_18_April.pdf?ua=1

_____. **Guidelines on Evaluation of Similar Biotherapeutic Products (SBPs)**[online]. Genebra, 2009. [capturado em 18 jun 2016]. Disponível em: http://www.who.int/biologicals/areas/WHO_TRS_822_A3_mAbs.pdf?ua=1

_____. **Guidelines on tissue infectivity distribution in transmissible spongiform 26 encephalopathies.** [online]. Genebra, 2006. [capturado em 30 jun 2016]. Disponível em: <http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf>

_____. **Guidelines on transmissible spongiform encephalopathies in relation to biological and pharmaceutical products.** [online]. Genebra, 2003. [capturado em 30 jun 2016]. Disponível em: <http://www.who.int/biologicals/publications/en/whotse2003.pdf>

_____. **Technical Report Series No. 822: Guidelines for assuring the quality of monoclonal antibodies for use in humans** [online]. Genebra, 1992. [capturado em 18 jun 2016]. Disponível em: http://www.who.int/biologicals/areas/WHO_TRS_822_A3_mAbs.pdf?ua=1

Thimmaraju PK, Rakshambikai R, Farista R, Juluru K. **Legislations on biosimilar interchangeability in the US and EU – developments far from visibility**. [online]. 2015. [capturado em 02 jul 2016]. Disponível em: <http://www.gabionline.net/Sponsored-Articles/Legislations-on-biosimilar-interchangeability-in-the-US-and-EU-developments-far-from-visibility>

Thomson Reuters. **Cortellis Regulatory Intelligence**. Philadelphia. Acesso em 15 dez 2015. Disponível em [online]: http://ipscience.thomsonreuters.com/product/cortellis_regulatory_intelligence/?utm_source=Adwords&utm_medium=paid&utm_campaign=CRI&gclid=CLvy4oa4ts0CFYQJkQodN1sIeg&gclsrc=aw.ds

Yin RK. **Case study research: design and methods** [online]. 2009. [capturado em 08 fev 2016]. Disponível em: https://books.google.com.br/books?id=k0WrN3rBz_sC&pg=PR14&dq=yin+RK+methods&hl=pt-BR#v=onepage&q=yin%20RK%20methods&f=false

Thimmaraju PK, Rakshambikai R, Farista R, Juluru K. **Legislations on biosimilar interchangeability in the US and EU – developments far from visibility**. [online]. 2015. [capturado em 02 jul 2016]. Disponível em: <http://www.gabionline.net/Sponsored-Articles/Legislations-on-biosimilar-interchangeability-in-the-US-and-EU-developments-far-from-visibility>

ANEXO I

“PROPOSTA DE PARÂMETROS DE PRODUÇÃO E CONTROLE COMO REQUISITOS PARA REGISTRO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS PARA USO TERAPÊUTICO”				
Você acha relevante a existência de um Marco Regulatório exclusivo para Anticorpos Monoclonais para uso terapêutico?				
Sim		Não		
Produção e Controle de Qualidade				
Indique o nível de relevância de cada requisito técnico para o registro de Anticorpo Monoclonal para Uso Terapêutico, onde:				
0 = "Não Relevante"				
1 = "Pouco Relevante"				
2 = "Relevante"				
3 = "Muito Relevante"				
A. Célula Hospedeira e Vetor de Expressão				
A1. Célula Hospedeira	0	1	2	3
1. Origem da célula hospedeira				
2. Histórico da célula hospedeira				
3. Certificação de célula hospedeira				
4. Descrição das características genotípicas e fenotípicas				
5. Descrição do histórico da célula em relação ao seu emprego na produção de produtos biofarmacêuticos				
6. Descrição da patogenicidade e informações relacionadas ao risco biológico, quando aplicável				
A2. Vetor de Expressão	0	1	2	3
7. Origem do vetor de expressão				

8. Histórico do vetor de expressão				
9. Elementos genéticos do vetor de expressão incluindo origem e função				
10. Informar se o vetor expressa mais de uma proteína (proteínas de fusão)				
11. Descrever o método utilizado para preservação do plasmídeo				
12. Informações sobre os elementos e estrutura do vetor de expressão (origem de replicação, promotores, Marcadores Antibióticos, Mapa de Restrição)				
13 - Indicar se a cadeia leve e pesada estão no mesmo vetor ou em vetores separados				
14. Métodos usados para amplificar o vetor de expressão				
15. Descrição completa do método utilizado para transformar o vetor de expressão na célula hospedeira				
16. Detalhes sobre a origem e identidade do gene a ser clonado e os sítios de integração do gene no vetor de expressão				
A3. Célula Transformada / Trasfectada	0	1	2	3
17. Racional usado para selecionar a célula clonada				
18. Meio usado para a seleção da célula clonada				
19. Informar se o vetor é integrado ou extra cromossomial				
20. Estabilidade genética da combinação hospedeiro-vetor				
21. Sequência nucleotídica do gene clonado e das regiões flaqueadoras do vetor de expressão				
22. Descrição detalhada das medidas para promover e controlar a expressão do gen clonado na célula hospedeira durante a produção				
B. Sistema de Banco de Células				
B1. Master Cell Bank e Work Cell Bank	0	1	2	3
23. Identidade				
24. Pureza				
25. Tipo e tempo de colheita				
26. Características fisiológicas de crescimento				
27. Características morfológicas				
28. Descrição de detalhada da confecção do MCB/WCB				

B2.Estabilidade do sistema de banco de células	0	1	2	3
29. Expectativa da vida do Banco de Células				
30. Tamanho do Banco de Células (número de ampolas)				
31. Estabilidade do sistema vetor-hospedeiro no banco de células				
32. Descrição do nível de glicosilação e integridade molecular fenotípica e genotípica principalmente nos casos de colheitas múltiplas de longas fermentações				
33. Sistema de armazenamento incluindo a descrição do crioprotetor				
34. Programa de Monitoramento da Estabilidade - Frequência Anual				
B3.Controle do sistema de banco de células	0	1	2	3
35. Marcadores bioquímicos				
36. Marcadores imunológicos				
37. Substratos incluindo testes específicos para detecção de agentes adventícios				
38. Expressão de construção incluindo o nível de expressão, número de cópias e número de sítios de integração				
39. Determinação da sequência nucleotídica do gene clonado pelo menos uma vez a cada passagem do "Master Cell Bank" para o "Work Cell Bank".				
40. Caracterização do "Master Cell Bank" por marcadores genotípicos e fenotípicos, testes para comprovação da identidade.				
C. Meio de Cultura e Outros Materiais				
C1. Meio de cultura	0	1	2	3
41.Descrição dos componentes do meio de cultura				
42.Qualidade e controle dos componentes do meio				
43. Componentes do meio de cultura e qualidade, controle e meia vida dos ingredientes do meio				
C2. Materiais	0	1	2	3
44.Origem dos Materiais (regentes, solventes e enzimas) usados na produção do Ingrediente Farmacêutico Ativo				
45.Qualidade e controle dos materiais				
46.Utilização de metodologias capazes de detectar agentes adventícios				
47.Identificação das etapas onde os materiais são utilizados				

48. Comprovação de que o material é livre de encefalopatia espongiforme transmissível				
D. Processo produtivo				
D1. Produção de ingrediente farmacêutico ativo	0	1	2	3
49. Identidade do ingrediente farmacêutico ativo incluindo o padrão de Isoformas				
50. Detecção do DNA do Hospedeiro no Ingrediente Farmacêutico Ativo				
51. Concentração de Proteínas				
52. Determinação do Nível de Pureza (ELISA ou HPLC)				
53. Identificação das Proteínas Contaminantes do Hospedeiro no IFA e Sensibilidade dos Métodos utilizados para identificação de contaminantes.				
54. Determinação de pH				
55. Determinação da potência				
56. Determinação do Conteúdo de Ácido Siálico				
57. Descrição do sistema de fechamento e embalagem primária do Ingrediente Farmacêutico Ativo				
58. Caracterização Físico Química, incluindo a avaliação da estrutura primária, secundária, terciária e quaternária e avaliação da estrutura Glicana, caracterização das propriedades imunológicas e Avaliação detalhada da atividade biológica, demonstrando o mecanismo de ação (ex: anticorpo-dependente, citotoxicidade celular, citotoxicidade dependente do sistema complemento ou apoptose) de ação e habilidade para ativar outras funções efetoras.				
D2. Expansão celular	0	1	2	3
59. Método e forma (tubo de cultura, roller)				
60. Avaliação da homogeneidade				
61. Avaliação da pureza				
62. Informações sobre a formação da monocamada				
D3. Cultivo com número finito de passagens	0	1	2	3
63. Descrição detalhada de todos os procedimentos e materiais usados para o cultivo celular e indução do produto.				
64. Fornecer dados sobre a extensão e natureza de qualquer contaminação microbiana para cada corrida e a sensibilidade o conjunto de métodos utilizados para detecção.				

65. Dados sobre a consistência das condições e crescimento da cultura e do rendimento do produto.				
66. Demonstração do número máximo dos níveis de passagens permitidos considerando a idade limite da célula in vitro.				
67. Demonstração de como é realizado o Monitoramento das Características do complexo célula-hospedeiro e do vetor no final dos ciclos de produção.				
68. Nos casos em que o vetor estiver presente em múltiplas cópias integrados dentro do genoma da célula hospedeira, demonstrar as abordagens alternativas utilizadas para confirmar a sequencia do inserto codificante do produto bioterapêutico derivado de DNA recombinante.				
D4. Cultivo contínuo	0	1	2	3
69. Descrição detalhada de todos os procedimentos e materiais usados para o cultivo celular e indução da expressão do produto.				
70. Descrição do tipo e frequência do monitoramento realizado durante o tempo de cultivo considerando os parâmetros de pH, CO ₂ , apoptose e características morfológicas.				
71. Estabelecer os valores mínimos de rendimento a serem atingido e demonstrar que as variações no rendimento o nos parâmetros de cultivo não ultrapassam os limites especificados.				
72. Especificar o período máximo do cultivo contínuo baseado na informação da estabilidade do sistema e consistência do produto.				
73. Demonstrar a frequência e como é realizada a avaliação da estabilidade do sistema vetor hospedeiro ao longo do cultivo contínuo.				
D5. Purificação	0	1	2	3
74. Descrição do processo de purificação				
75. Demonstração da Eficiência do processo de purificação				
76. Metodologia utilizada para remoção de DNA do hospedeiro no Ingrediente Farmacêutico Ativo				
77. Metodologia utilizada para quantificação de proteínas totais				
78. Metodologia utilizada para identificação de impurezas de isoformas				

79. Validação das Metodologias utilizadas para remoção do DNA do hospedeiro, para quantificação de proteínas totais e para identificação de impurezas e isoformas.				
80. Metodologia utilizada eliminação de impurezas virais				
D6. Controle em Processo	0	1	2	3
81. Controle em Processo dos Parâmetros críticos que impactam nos atributos de qualidade				
82. Descrição sobre como é realizado o monitoramento de contaminantes.				
83. Definição dos limites para contaminação, considerando a sensibilidade dos métodos utilizados e o procedimento adotado para identificação do microrganismo em caso de contaminação.				
84. Apresentação do critério utilizado para rejeição de lotes de cultivo				
85. Descrição de como é realizado o monitoramento das características Célula Hospedeira/Vetor no final dos ciclos de produção.				
86. Quantificação da redução do número de cópias de plasmídeo ou do vetor de expressão dentro da célula hospedeira .				
87. Descrição de como é realizada a eliminação de Impurezas e vírus.				
88. Caracterização do nível de glicosilação do anticorpo monoclonal no produto final.				
D7. Processamento Final	0	1	2	3
89. Descrição do Sistema de Envase				
90. Descrição da Formulação				
91. Demonstração da Reprodutibilidade do Processo				
92. Programa de Estabilidade do Produto Acabado				
93. Descrição do sistema de fechamento e embalagem primária do Produto Acabado, incluindo a descrição do teste de integridade e comprovação de que não há interação da embalagem com o produto assim como formação de complexos imunogênicos.				

<p>94. Caracterização Físico Química incluindo tamanho, carga, ponto isoelétrico, sequência aminoácida, hidrofobicidade e modificações pós-traducionais, avaliação da estrutura primária, secundária, terciária e quaternária. Avaliação da estrutura Glicana, caracterização das propriedades imunoquímicas e avaliação detalhada da atividade biológica, demonstrando o mecanismo de ação (ex: anticorpo-dependente, citotoxicidade celular, citotoxicidade dependente do sistema complemento ou apoptose) de ação e habilidade para ativar outras funções efetoras.</p>				
--	--	--	--	--