

## NOTA

### Evaluación clínica de un candidato vacunal basado en la cepa atenuada 638 *Vibrio cholerae* O1 El Tor Ogawa

Lic. Hilda María García Sánchez D.C., Dr. Rodrigo Felipe Valera Fernández

Instituto Finlay. Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Ave. 27 No. 19805, La Lisa. Ciudad de La Habana. Cuba.

Correo electrónico: hgarcia@finlay.edu.cu

Un proceso tecnológico desarrollado en Cuba con la cepa atenuada 638 *Vibrio cholerae* O1 El Tor Ogawa, permitió obtener un candidato vacunal oral contra el cólera. En los ensayos clínicos realizados con poblaciones diferentes, una no endémica de cólera (Cuba) y otra endémica (Mozambique), mostró que no se registraron eventos adversos graves; la seroconversión de anticuerpos vibriocidas fue de un 100% en Cuba y de 97,47% en Mozambique. Se concluye que este candidato vacunal fue seguro, bien tolerado e inmunogénico en ambas poblaciones.

Palabras clave: *Vibrio cholerae* O1, cepa atenuada, ensayos clínicos.

El interés en crear vacunas para el control del cólera data desde el descubrimiento de la bacteria en 1883-1884. Sin embargo, no fue hasta 1960 en que se realizaron las primeras evaluaciones experimentales de vacunas parenterales contra *V. cholerae* O1. Pronto se evidenció que conferían una protección limitada y de corta duración (3-6 meses) en poblaciones de zonas endémicas. Su eficacia protectora era aún más limitada e incierta en zonas no endémicas, además de resultar muy reactogénica.

Actualmente se sabe que para lograr una inmunidad adecuada, en el caso de infecciones intestinales como cólera, es imprescindible estimular una respuesta local, en cuyo caso las vacunas parenterales no son las más indicadas y no son recomendadas por la OMS.

Las características más importantes de una vacuna ideal contra el cólera son: que se provea de altos niveles de protección por un largo tiempo, seguido de la administración de una simple dosis; que esta protección se alcance en unos pocos días después de la vacunación; que la vía de administración sea oral para una óptima estimulación del sistema inmune mucosal del intestino; que se logre la protección en niños y personas del grupo sanguíneo O; que el envasado sea una formulación práctica, factible para una vacunación masiva y relativamente de bajo costo. Las dos vacunas orales licenciadas disponibles (CVD 103-HgR y BS/WCV) cumplen solo algunas de estas características

pero no todas. Por este motivo se continúan las investigaciones hacia el desarrollo de nuevas vacunas orales.

La cepa atenuada 638 procede de una segunda generación de cepas modificadas genéticamente derivada de la cepa virulenta C7258 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa, aislada durante la epidemia del Perú de 1991. Esta cepa ha sido manipulada genéticamente, mediante el empleo de vectores suicidas y técnicas de intercambio alélico, que ha conllevado a la construcción de una cepa CTX $\phi$  negativa (1), a la cual se le inactivó el gen *hapA* que codifica para la hemaglutinina proteasa de *V. cholerae*, obteniéndose así una cepa hemaglutinina proteasa negativa. En este sitio se realizó una integración estable del gen *celA*, el cual codifica para la enzima endogluconasa A del *Clostridium thermocellum*, que sirve como marcador genético de la cepa candidata a vacuna, pues este gen no está presente en cepas del género *Vibrio* (2).

La cepa 638 resultó elegible para ser evaluada en ensayos clínicos al demostrarse su atenuación con la utilización de modelos animales (3).

Se realizaron ensayos clínicos con cultivos frescos de la cepa 638 para evaluar su seguridad e inmunogenicidad en adultos sanos. Los ensayos clínicos se realizaron en las salas de aislamiento del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK), Ciudad de La Habana, Cuba (4) y del Instituto del Seguro Social de Guayaquil, Ecuador.

Además, en Cuba se realizó el estudio para evaluar la capacidad de protección contra la diarrea en voluntarios inmunizados con una simple dosis ( $10^9$  UFC) de la cepa 638 y retados al mes con la cepa virulenta 3008 del mismo biotipo y serotipo (5).

En los ensayos clínicos realizados en Cuba y Ecuador no se registraron eventos adversos graves. Los eventos adversos esperados reportados fueron ligeros y de corta duración, fundamentalmente dolor abdominal, meteorismo, acidez, cefalea, vómitos y fiebre, sin diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los que ingirieron la cepa atenuada y los que recibieron placebo. La cepa 638 demostró ser inmunogénica (más de 90% de seroconversión en el ensayo vibriocida). En el ensayo de reto se observó una protección del 100% en el grupo de voluntarios vacunados (4, 5).

Los resultados anteriores permitieron iniciar en la Planta de Desarrollo y de Calidad del Instituto Finlay, de Cuba, el desarrollo tecnológico, farmacéutico y analítico de los lotes del candidato vacunal para ensayos clínicos, cumpliendo los requerimientos de Buenas Prácticas de Producción (BPP).

La formulación del candidato vacunal liofilizado está compuesto por la cepa atenuada 638 como ingrediente farmacéutico activo junto con los lioprotectores: leche descremada, peptona y sorbitol. Durante la fase de desarrollo del candidato vacunal se establecieron los parámetros de operación y control

para las distintas etapas del proceso que facilitaron su caracterización. Se demostró consistencia en la producción de 6 lotes consecutivos producidos en la Planta de Desarrollo y todos cumplieron con los parámetros de calidad para las diferentes etapas productivas.

El candidato es administrado con un antiácido compuesto por: bicarbonato de sodio, ácido ascórbico, manitol, lactosa anhidra, sacarina sódica y polivinilpíloridona; formulado en la Empresa Farmacéutica "Reynaldo Gutiérrez", de Cuba. El antiácido es mezclado con agua natural y después se adiciona el contenido de la vacuna.

El Departamento de Modelos Experimentales y Toxicología Preclínica del Instituto Finlay evaluó el potencial tóxico de este candidato vacunal para humanos en la fase de desarrollo preclínico con el biomodelo de ratas Sprague Dawley, mediante los estudios de toxicidad por dosis única y de toxicidad por dosis repetidas. Ambos estudios permitieron conocer que la vacuna es inocua por vía oral y no produce alteraciones locales en el tracto digestivo.

Los lotes del producto para ensayos clínicos cumplen con las especificaciones de calidad establecidas por la Organización Mundial de la Salud y el Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, se conservan en el Almacén de Productos Terminados del Instituto Finlay a -20 °C y su transportación se realiza de 2-8 °C.

Este candidato vacunal requiere ser evaluado inicialmente en poblaciones sin exposición ambiental a *V. cholerae* epidémico, para ello se realizó un estudio de seguridad, reactogenicidad e

inmunogenicidad en adultos sanos de ambos sexos en el IPK.

Con este candidato se encontraron ausencia de eventos adversos graves y de eventos adversos no esperados con la presencia solamente de eventos adversos esperados ligeros que desaparecieron, sin necesidad de tratamiento, en un corto período de tiempo y se alcanzó una seroconversión de un 100% (en prensa).

Para continuar el desarrollo clínico de este candidato, en un área endémica de cólera de África subsahariana, se estableció un Convenio Marco de Colaboración entre el Instituto Finlay y el Instituto Nacional de Salud de Mozambique.

Esta colaboración se inició con la ejecución de un ensayo clínico para evaluar la seguridad, reactogenicidad e inmunogenicidad del candidato vacunal, en adultos aparentemente sanos, con edades iguales o mayores a 18 años, de ambos sexos.

En la población estudiada no se registraron eventos adversos graves y el porcentaje de sujetos que reportaron eventos adversos, no mostró diferencias significativas entre vacunados y placebos. Los resultados del estudio de inmunogenicidad mostraron una seroconversión de 97,47% en el grupo vacunado (en prensa).

Aun cuando los resultados alcanzados hasta el presente, dentro del desarrollo clínico de la vacuna viva de la cepa atenuada 638 como candidato vacunal, nos permiten aseverar que el mismo es seguro, bien tolerado e inmunogénico, debe confirmarse su eficacia en condiciones epidémicas antes de que alcance la categoría de vacuna, se logre

su registro médico sanitario como producto farmacéutico, y pueda ser utilizado como una herramienta auxiliar dentro de las medidas para el control del cólera en regiones donde esta enfermedad persiste.

## Referencias

1. Benítez JA, Silva A, Rodríguez BL, Fando R, Campos J, Robert A, et al. Genetic Manipulation of *Vibrio cholerae* for Vaccine Development: Construction of Live Attenuated El Tor Candidate Vaccine Strains. Archives of Medical Research. 1996;27(3):275-283.
2. Robert A, Silva A, Benítez JA, Rodríguez BL, Fando R, Campos J, et al. Tagging a *Vibrio cholerae* El Tor candidate vaccine strain by disruption of its hemagglutinin/ protease gene using a novel reporter enzyme, *Clostridium thermocellone* endoglucanase A. Vaccine 1996;14: 1517-22.
3. García H, García L, Oliva R, Perez JL, Cedré B, Domínguez R y Benítez JA. Estudio del patrón de excreción y la capacidad protectora inmunizados de forma oral con cepas atenuadas de *Vibrio cholerae* O1 biotipo El Tor. Revista Cubana de Medicina Tropical 1998;50(2): 115-119.
4. Benítez JA, García L, Silva A, García H, Fando R, Cedre B, et al. Preliminary Assessment of the safety and Immunogenicity of a New CTXφ-negative, Hemagglutinin/Protease-Defective El Tor Strain as a Cholera Vaccine Candidate. Infection and Immunity 1999;67(2):539-545.
5. García L, Díaz-Jidy M, García H, Rodríguez BL, Fernández R, Año G, et al. The vaccine candidate *V. cholerae* 638 is protective against cholera in healthy volunteers. Infection and Immunity. 2005; 73(5):3018-3024.

## Clinical evaluation of a vaccine candidate based on the attenuated strain 638 *Vibrio cholerae* O1 El Tor Ogawa

### Abstract

A technological process developed in Cuba with the attenuated strain 638 *Vibrio cholerae* O1 El Tor Ogawa allowed to obtain an oral vaccine candidate against cholera. Clinical trials conducted with different populations, a cholera non-endemic population (Cuba) and an endemic population (Mozambique) showed no serious adverse events registered; seroconversion of vibriocidal antibodies was 100% in Cuba and 97,47% in Mozambique. It is concluded that this vaccine candidate is safe, well tolerated and immunogenic in both populations.

Key words: *Vibrio cholerae* O1, attenuated strain, clinical trials.

Recibido: Agosto/07

Aprobado: Agosto/07