

## VACUNA CONTRA LA FIEBRE HEMORRAGICA ARGENTINA CANDID#1 PRODUCIDA EN LA ARGENTINA. INMUNOGENICIDAD Y SEGURIDAD

DELIA A. ENRIA<sup>1</sup>, ANA M. AMBROSIO<sup>1</sup>, ANA M. BRIGGILER<sup>1</sup>, MARIA R. FEULLADE<sup>1</sup>, ELEONORA CRIVELLI<sup>2</sup>, y GRUPO DE ESTUDIO DE LA VACUNA CONTRA LA FIEBRE HEMORRAGICA ARGENTINA<sup>1</sup>**Grupo de estudio de la vacuna contra la Fiebre Hemorrágica Argentina: Analía Azar, Gustavo Bonavitta, Alejandro Bottale, Clara Digilio, Rubén Fassio, Leandro Ranzuglia, Laura Riera, María del Carmen Saavedra, Zaida Sánchez, Analía Senn**<sup>1</sup>Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas Dr. J.I. Maiztegui (INEVH);<sup>2</sup>Hospital Interzonal de Agudos San José, Pergamino, Buenos Aires

**Resumen** Se realizó un estudio clínico en 946 voluntarios humanos sanos, donde se comparó la vacuna Candid#1 producida en Argentina con la elaborada en EE.UU., que había sido utilizada en estudios previos. Como objetivo primario se evaluó la equivalencia en la eficacia utilizando como marcador subrogante a la inmunogenicidad medida por detección de anticuerpos neutralizantes. Como objetivo secundario se evaluó la equivalencia en inocuidad comparando las tasas de reacciones adversas. Ambas vacunas mostraron una tasa equivalente de inmunogenicidad ligeramente superior al 95.5%, que es la eficacia estimada para Candid #1 en estudios previos. No se observaron eventos adversos graves relacionados con la vacuna. Los eventos adversos generales considerados relacionados fueron de escasa significación clínica y de resolución espontánea o con tratamiento sintomático; se presentaron en los receptores de ambas vacunas en tasas equivalentes (29.9% para la vacuna fabricada en la Argentina y 35.0% para la fabricada en EE.UU.), e incluyeron: cefalea, decaimiento, mialgias, plaquetopenia leve (< 150 000 plaquetas/mm<sup>3</sup>), náuseas y/o vómitos, leucopenia leve (< 4 000 blancos/mm<sup>3</sup>), fiebre, dolor retroocular, mareos, microhematuria, lumbalgia y exantema. Estos resultados indican que la vacuna Candid #1 elaborada en la Argentina es equivalente a la elaborada en los EE.UU. Este estudio permitió el registro del biológico producido en la Argentina ante la autoridad regulatoria del país (ANMAT).

**Palabras clave:** fiebre hemorrágica argentina, virus Junin, Arenaviridae, vacuna Candid N° 1

**Abstract** **Candid#1 vaccine against Argentine Hemorrhagic Fever produced in Argentina. Immunogenicity and safety.** A clinical study in 946 human volunteers was done to compare Candid #1 vaccine manufactured in Argentina with the vaccine produced in USA that had been previously used. The efficacy was evaluated using immunogenicity measured by the detection of neutralizing antibodies as a surrogate marker. Safety was evaluated comparing the rate of adverse events. Both vaccines showed a comparable rate of seroconversion, slightly higher than the efficacy estimated from previous studies (95.5%). There were no severe adverse events related to the vaccines. The general events considered related to the vaccines were not clinically relevant and disappeared either spontaneously or with symptomatic treatment. Similar rates of adverse events (29.9% for the Argentine vaccine and 35.0% for the USA vaccine) were found for both vaccines. These included: headache, weakness, myalgias, mild low blood cell (< 4 000/mm<sup>3</sup>) and platelet (< 150 000/mm<sup>3</sup>) counts, nausea and/or vomiting, fever, retroocular pain, dizziness, microhematuria, low backache and exantema. These results indicate that the vaccine Candid#1 manufactured in Argentina is equivalent to the manufactured in USA. These results allowed the National Institute of Human Viral Diseases (INEVH) to register the vaccine produced locally under the National Regulatory Authority (ANMAT).

**Key words:** argentine hemorrhagic fever, Junin virus, Arenaviridae, Candid#1 vaccine

La fiebre hemorrágica argentina (FHA) es una enfermedad aguda grave producida por el virus Junin (JUNV, *Arenaviridae*)<sup>1, 2, 3</sup>, cuyo reservorio natural es el roedor *Calomys musculus*. La infección humana resulta del contacto directo o indirecto de un individuo susceptible con roedores infectados y/o sus excretas<sup>4, 5, 6, 7</sup>. El control de los roedores reservorios no es practicable, por lo que desde el descubrimiento del JUNV todos los esfuerzos para la prevención de la FHA han estado dirigidos a la obtención de una vacuna<sup>8, 9</sup>.

Un proyecto de colaboración científica entre EE.UU. y la Argentina permitió el desarrollo de la vacuna de virus Junin vivo atenuado Candid #1 (C#1)<sup>9</sup>. Esta cepa, con una historia registrada de pasajes en huéspedes certificados, resultó ser inocua, inmunogénica y eficaz para prevenir la enfermedad por JUNV en estudios preclínicos realizados en ratones, cobayos y monos Rhesus<sup>10, 11</sup>. En estos estudios se demostró también la ausencia de neurovirulencia, neurotropismo o manifestaciones hemorrágicas, y la estabilidad del comportamiento atenuado de la cepa vacunal. Cobayos y monos Rhesus inoculados con dosis crecientes de C#1 desarrollaron anticuerpos neutralizantes (ACNT) y resistieron al desafío parenteral con cepas altamente virulentas de JUNV. C#1 también protegió a cobayos y monos contra el desafío con virus Machupo, el agente etiológico de la fiebre hemorrágica boliviana<sup>12-14</sup>.

Los estudios clínicos de C#1 en voluntarios sanos en fases I y II fueron realizados en EE.UU. y la Argentina con vacuna producida por *The Salk Institute*, Swiftwater, PA, EE.UU.<sup>15, 16</sup>. Con estos mismos lotes de vacuna C#1, entre 1988 y 1990 se realizaron los ensayos de Fase III, como un estudio prospectivo, aleatorio, a doble ciego, utilizándose vacuna y placebo, que permitió demostrar que la eficacia de la vacuna para proteger contra la FHA fue 95.5% (IC: 95% 82-99%)<sup>17</sup>.

C#1 es un producto huérfano, categoría que incorpora a productos farmacéuticos destinados a enfermedades de muy baja prevalencia, cuya comercialización no recupera los costos del desarrollo, producción y distribución<sup>18</sup>. La elaboración y distribución de estos productos queda generalmente a cargo de los gobiernos y entidades públicas, y el proyecto original para el desarrollo de C#1 establecía que la vacuna debería producirse en la Argentina. Demostrada la eficacia de la vacuna para prevenir la FHA, el Ministerio de Salud de la Nación asumió el proyecto de producción nacional, designando al INEVH como laboratorio productor. Para este propósito se realizó la transferencia de la tecnología de producción de C#1 desde *The Salk Institute* al área de producción del INEVH, simultáneamente con la ejecución de reformas en las instalaciones de producción para cumplir con las Buenas Prácticas de Fabricación y Control (BPFyC). En el año 2001, estas instalaciones fueron habilitadas por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y

Tecnología (ANMAT) como planta para producir vacunas de virus vivo atenuado para uso en humanos<sup>19</sup>. Con el lote 7A, primer lote de vacuna C#1 producida en el INEVH, inspeccionado y liberado por la ANMAT, se realizó un estudio clínico para sustentar la comparabilidad entre la vacuna producida en EE.UU. y la producida en la Argentina<sup>20</sup>. Este ensayo clínico fue autorizado por la ANMAT (Disposición N° 5812) y por dos Comités de Ética independientes, e inspeccionado y monitoreado por los mismos entes y por un Comité *ad hoc* de Seguimiento de Seguridad de la Información (CSSI).

Este estudio se realizó con el objetivo de evaluar la inmunogenicidad como indicador subrogante de eficacia y la seguridad de la vacuna C#1 producida en la Argentina.

## Materiales y métodos

A fin de demostrar que la inmunogenicidad de la vacuna C#1 producida en la Argentina era no inferior a la de la vacuna C#1 elaborada en EE.UU., se realizó un estudio clínico de no inferioridad prospectivo, aleatorio, a doble ciego, en voluntarios sanos, de 15 a 65 años, en riesgo de adquirir FHA. Un grupo recibió C#1 fabricada en la Argentina y el otro grupo C#1 fabricada en los EE.UU. Estos grupos de voluntarios serán referidos como Grupo A y Grupo B respectivamente a lo largo de la presente comunicación.

Se utilizaron dos lotes de vacuna C#1 de diferentes orígenes:

- Lote 7A, producido en la Argentina, referido en este trabajo como Vacuna A
- Lote TSI 5/92, producido en EE.UU., referido en este trabajo como Vacuna B

El ensayo se diseñó cumpliendo las normas éticas de la declaración de Helsinki. El diseño del estudio fue aprobado por la ANMAT por Disposición N° 5812. El patrocinante (Ministerio de Salud de la Nación) designó un monitor independiente y un Comité de Seguimiento de Seguridad de la Información (CSSI) para supervisar todos los procedimientos, actuando este último a código abierto.

La consideración de los aspectos éticos estuvo a cargo de dos Comités independientes de Ética: el Comité de Evaluación Ética de Investigaciones Biomédicas del INEVH y el Comité Institucional de Ética en la Investigación en Salud del Hospital Pediátrico del Niño Jesús, Comisión Provincial de Investigación en Seres Humanos de Córdoba.

Cada participante debía firmar un acuerdo voluntario de consentimiento con conocimiento de causa, en el cual se detallaban los eventos adversos esperables asociados a la vacuna y a la vacunación, con base en la información obtenida en estudios previos, y un compromiso de no embarazo en el caso de las mujeres. Cuando se tratase de menores de 18 años debía requerirse, además, la firma de un tutor.

La convocatoria a los voluntarios se realizó mediante una intensa campaña en los medios audiovisuales, radiales y la prensa de diversas localidades del área endémica de FHA, así como presentaciones realizadas en escuelas ante estudiantes de los últimos años del nivel medio y público en general. Se invitó a participar a hombres y mujeres, de 15 a 65 años de edad, con residencia permanente o laboral en el área endémica de FHA, sin antecedentes de FHA ni vacunación previa para JUNV.

Con la difusión del ensayo, se inició un registro de personas que manifestaron su intención de participar, que culminó con 2 298 personas que se consideraron como pre-inscriptas, las que fueron luego seleccionadas siguiendo los criterios de inclusión y exclusión que seguidamente se detallan.

Los criterios de inclusión fueron: -firma del acuerdo de consentimiento, -15 a 65 años de edad, independiente del sexo, -residencia permanente o laboral en el área endémica de la FHA, -sin participación simultánea en otro protocolo de investigación, -disponible para seguimiento frecuente en los primeros 15 días y para los controles posteriores por el término de 3 meses, -sin antecedentes de FHA y -que no hubieran recibido previamente la vacuna C#1, -sanos según anamnesis, examen físico, y laboratorio clínico de admisión (definido como hematócrito  $\geq 32\%$  para mujeres,  $\geq 38\%$  para hombres; recuento de glóbulos blancos  $\geq 4\ 000$ ,  $\leq 12\ 000$  células/mm<sup>3</sup>, recuento diferencial aprobado por el investigador; plaquetas 150 000/500 000/mm<sup>3</sup>, TGO  $\leq 3 \times$  valor normal superior del laboratorio, creatinemia  $\leq 1.6$  mg/dl, examen de orina normal). Para las mujeres en edad fértil se requirió test de embarazo en orina negativo, dentro de las 48 horas previas a la inoculación, así como el compromiso de tomar medidas de anticoncepción adecuadas para evitar el embarazo dentro de los tres meses posteriores. Sobre este particular, cada voluntaria recibió asesoramiento de un médico especialista.

Los criterios de exclusión fueron: -enfermedad aguda en curso, -historia de inmunodeficiencia, -enfermedad crónica no controlada (a criterio del investigador), cáncer, enfermedad autoinmune, anafilaxia idiopática, inmunosupresión de cualquier origen, -las personas con historia de cáncer fueron excluidas, salvo que hubieran sido sometidas a cirugía seguida de un período de observación suficiente como para tener una razonable seguridad de cura, -enfermedad psiquiátrica u otras condiciones de salud que a criterio del investigador generara duda acerca del cumplimiento con el protocolo por parte del individuo, -vacunación con virus vivos atenuados en los 60 días previos o con virus muertos, -toxinas o subunidades en las dos semanas previas, -uso de algún agente bajo investigación dentro de los 30 días previos al estudio, -antecedentes de recepción de sangre, inmunoglobulinas u otro hemoderivado en los 6 meses previos y -cualquier antecedente de anafilaxia u otras reacciones adversas graves a vacunas.

Los voluntarios admitidos debían cumplir con la totalidad de los criterios de inclusión.

La admisión al estudio se inició con la firma del informe de consentimiento y continuó con el examen clínico y los estudios del laboratorio clínico (hemograma, recuento de plaquetas, TGO, creatinemia, orina con sedimento, grupo y factor sanguíneo).

Durante el período de vacunación serían retiradas del estudio las personas que habiendo sido seleccionadas, no se presentarían a vacunarse. En el período post vacunación serían causas de retiro: -la decisión del voluntario de abandonar el estudio, -el uso de medicamentos que pudieran interferir en la respuesta inmune del individuo dentro de los dos meses posteriores a la vacunación y -otros motivos que deberían analizarse caso por caso.

Se establecieron dos sistemas de seguimiento y vigilancia de eventos adversos:

a) Activo. Para el seguimiento activo de los voluntarios se elaboró un formulario de registro diario de síntomas durante los primeros 15 días, a completar por el voluntario. Se realizaron 2 controles a las 2 semanas y a los 2 meses post-vacunación, que consistieron en: examen clínico y estudios de laboratorio clínico para los parámetros enumerados en los

criterios de inclusión, así como búsqueda de anticuerpos específicos en suero mediante la técnica de neutralización para JUNV.

b) Pasivo. Un sistema pasivo de detección de eventos clínicos fuera de los controles programados fue diseñado para funcionar durante todo el período del estudio. En éste, todo voluntario que presentara algún evento clínico podía comunicarlo telefónicamente o presentarse a la consulta médica. En el primer caso sería registrada la sintomatología relatada en la historia clínica individual, debiendo citarse al voluntario para estudios adicionales a criterio del médico consultado. En caso de consultas personales serían examinados de acuerdo a los formularios de registro de eventos adversos.

Todos los eventos adversos graves deberían notificarse dentro de las 48 horas a la ANMAT, a los Comités de Ética y al CSSI.

El estudio establecía que el CSSI recibiera el informe de la totalidad de los eventos adversos registrados.

De cada participante se obtuvo una muestra de suero para determinación de anticuerpos neutralizantes contra JUNV (ACNT). Este procedimiento se repitió en los días 15 y 60 pos-vacunación, y en el momento en que un vacunado se presentase a consultar con el médico por cualquier síntoma. Todas las muestras de suero fueron fraccionadas en alícuotas y conservadas a  $-40\ ^\circ\text{C}$  hasta el momento de su análisis.

Para medir y comparar la eficacia de la vacuna C#1 de los dos orígenes se utilizó como marcador subrogante de eficacia a la inmunogenicidad, que fue evaluada mediante la detección de ACNT en suero, siendo el título de ACNT la mayor dilución del suero que inhibe el 80% de unidades formadoras de placas (ufp) de JUNV en células Vero. Este marcador fue seleccionado porque trabajos previos han demostrado que la infección por JUNV genera ACNT que protege de la enfermedad y que la transferencia pasiva de los mismos resulta protectora y/o terapéutica en animales experimentales y en humanos infectados con JUNV<sup>21-23</sup>.

De acuerdo con estudios previos de validación de la técnica<sup>24</sup> fue considerado positivo (respondedor) todo voluntario que resultara con títulos de ACNT  $< 1:10$  en la muestra de pre-vacunación, y con títulos  $\geq 1:10$  en las determinaciones pos-vacunación.

Estudios previos han demostrado que la C#1 producida en EE.UU. genera respuesta de ACNT en el 82 al 99% de los vacunados<sup>17</sup>. Para el presente estudio se estipuló un porcentaje de inmunogenicidad esperable del 90% y fue diseñado para detectar en el Grupo A una diferencia  $\geq 7\%$  (Ho)<sup>20</sup>.

Para medir la seguridad se determinaron las tasas de reacciones adversas en ambos grupos. Este estudio buscó demostrar que la tasa de reacciones adversas del Grupo A era igual o menor a la del Grupo B. Estudios previos demostraron que puede esperarse una tasa de eventos adversos de 1.1%<sup>17</sup>. Por ello, fue establecido como hipótesis nula, para la muestra utilizada, una tasa  $\geq 2\%$  de eventos adversos para el Grupo A.

Se realizó un cálculo de muestra para datos binarios para comparación de porcentajes, usando el test de Fisher, con un  $\alpha = 0.05$  y  $\beta = 0.10$  en un test a dos colas. Se consideró un exceso de 3% para la eventualidad de que ingresaran personas con inmunidad previa para el JUNV y 20% por pérdidas probables en el seguimiento. Se calculó una muestra de 950 voluntarios donde 475 recibirían vacuna argentina y 475 de EE.UU. Dado que la muestra seleccionada sería insuficiente para la detección de eventos adversos de baja incidencia (1% o menor), se eligió una muestra que asegurara la detección de una tasa de eventos adversos  $\geq 2\%$ , estableciendo una precisión absoluta específica (d) de 0.02 con un nivel de confianza del 95%.

El proceso de aleatorización y distribución a doble ciego se realizó utilizando bases de datos MS-ACCESS conjuntamente con el lenguaje *Visual Basic*. Mediante este programa se generaron los números al azar para cada voluntario que había firmado el informe de consentimiento y un listado con números aleatorios para los 2 grupos de tratamiento.

Los grupos se estratificaron por sexo y edad y se balanceó en bloques de 8 (4 para el Grupo A y 4 para el Grupo B). Los voluntarios fueron incorporados al sistema según orden de admisión que siguió el flujo de cumplimiento de los requisitos de inclusión y fechas de disponibilidad de los voluntarios para concurrir al centro. La inoculación fue realizada con desconocimiento del origen de la vacuna por el vacunador y el voluntario.

Se compararon las tasas de inmunogenicidad y la de reacciones adversas usando el test de  $\chi^2$  y Fisher con un  $\alpha = 0.05$  y  $\beta = 0.10$ , según correspondía. Para las variables continuas se utilizó el test "t". Los títulos de ACNT de los Grupos A y B fueron analizados mediante la comparación de medias geométricas, cuyos valores fueron normalizados mediante transformación logarítmica, utilizándose test "t" de comparación de medias. Los parámetros de laboratorio clínico se analizaron mediante la aplicación de test "t" para comparación de promedios y test  $\chi^2$  o Fisher para comparación de porcentajes.

El análisis se realizó por: a) intención de tratamiento, incluyendo a todos los voluntarios que recibieron el mismo; b) por protocolo, incorporando sólo a los que concurrieron a las consultas programadas.

## Resultados

La apertura del código de tratamiento se realizó a los 6 meses pos-inoculación.

De 2 298 personas preinscriptas, 967 fueron excluidas porque decidieron no participar. Los 1 331 voluntarios restantes firmaron el informe de consentimiento y

fueron admitidos en el estudio. Se vacunaron 946 voluntarios en el término de dos semanas consecutivas. Los restantes 385 voluntarios fueron excluidos por las siguientes razones: 249 no reunían criterios de inclusión, 129 rehusaron participar y 7 por otras razones. Una de las ramas del estudio (Grupo B) tuvo 471 personas vacunadas en lugar de las 475 previstas, ya que al finalizar el último día de vacunación no habían concurrido 4 voluntarios. La Tabla 1 describe la distribución de los participantes vacunados discriminados por tratamiento recibido y concurrencia a controles. En el Grupo B concurrieron 4 voluntarios más al segundo control que al primero.

La Tabla 2 muestra la distribución de los voluntarios inoculados según sexo, edad y tratamiento recibido. La distribución de sexos entre los tratamientos A y B no presentó diferencias significativas (masculino:  $p = 0.93$ , femenino:  $p = 1.00$ ).

En la Tabla 3 se presenta la distribución de los voluntarios incluidos y excluidos del análisis de inmunogenicidad, así como los valores medios y rango de los títulos de ACNT encontrados para ambos grupos. Fueron excluidos del análisis estadístico 6/475 (1.26%) en el Grupo A y 12/471 (2.54%) del Grupo B por presentar ACNT específicos preinoculación ( $p = 0.23$ ).

Dentro de los 15 días post-inoculación, entre 454 voluntarios seronegativos del Grupo A, se observó la

TABLA 1.- Vacunados con *Candid #1* según grupo y controles

	Grupo A N= 475 (%)	Grupo B N= 471 (%)	Total N= 946 (%)
1º Control	462 (97)	457 (97)	919 (97)
2º Control	461 (97)	461 (98)	922 (97)

Grupo A: vacuna producida en la Argentina  
Grupo B: vacuna producida en EE.UU.

TABLA 2.- Vacunados con *Candid #1* según grupo, sexo y grupo etario

Edad	Grupo A		Grupo B		Total
	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	
15-24	186	116	187	114	603
25-34	30	36	27	31	124
35-44	24	28	18	31	101
45-55	17	20	22	23	82
55-65	7	11	10	8	36
Total	264	211	264	207	946

Grupo A: vacuna producida en la Argentina  
Grupo B: vacuna producida en EE.UU.

TABLA 3.– Resultados de inmunogenicidad según grupos

Grupos	Excluidos	Incluidos			
		Seroconversión	Rango de títulos ACNT	$\bar{X}G$ : título ACNT	IC 95%
A	6/475 (1.26)	444/457 (97.15)	10-5120	148	80-216
B	12/471 (2.54)	447/449 (99.55)	10-2560	176	118-234
Probabilidad	0.23	0.02			

Grupo A: vacuna producida en la Argentina

Grupo B: vacuna producida en EE.UU.

ACNT: anticuerpos neutralizantes;  $\bar{X}G$ : media geométrica; IC: intervalo de confianza

TABLA 4.– Eventos adversos generales leves más frecuentes asociados a la vacunación con Candid#1

Síntomas y signos	Grupo A N= 475	Grupo B N= 471	Total N= 946
Cefalea	77	78	155
Decaimiento	64	62	126
Mialgias	33	48	81
Plaquetopenia	21	19	40
Náuseas y/o vómitos	12	9	21
Leucopenia	11	8	19
Síndrome febril inespecífico*	10	22	32
Dolor retroocular	3	2	5
Mareos	3	2	5
Microhematuria	3	4	7
Lumbalgias	2	3	5
Exantema	1	3	4

Grupo A: vacuna producida en la Argentina

Grupo B: vacuna producida en EE.UU.

\*( $p = 0.04$ )

seroconversión en 53 (11.67%); entre los 445 seronegativos del Grupo B seroconvirtieron 68 (15.28%) ( $p = 0.14$ ). No se encontró diferencia significativa entre los valores normalizados de los títulos medios de ACNT de ambos grupos ( $A = 22.90 \pm 23.29$ ;  $B = 25.70 \pm 25.29$ ).

En la Tabla 3 se representan también los resultados del control realizado a los 60 o más días post vacunación. Se detectaron ACNT en títulos  $\geq 1:10$  en el 97.15% (444/457) de los voluntarios en el Grupo A y 99.55% (447/449) en el Grupo B. La diferencia en la inmunogenicidad observada (2.3%) fue menor que la estimada (7%), demostrando no ser inferior el tratamiento A con respecto al B ( $p = 0.02$ ). No se encontró diferencia significativa entre los títulos (media geométrica,  $\bar{X}G$ ) de ACNT generados por ambas vacunas. Las  $\bar{X}G$  de los títulos fueron: Grupo A:  $148 \pm 34.11$  y Grupo B:  $176 \pm 29.08$ . Las dife-

rencias observadas no son significativas (IC 95% Grupo A = 80-216; IC 95% Grupo B = 118-234).

El análisis de los datos referidos a seguridad en este estudio se pueden resumir como sigue: en total, 356 voluntarios del Grupo A (75%) y 358 (76%) voluntarios del Grupo B notificaron uno o más eventos adversos a lo largo del estudio ( $p = 0.70$ ). El 69% de las consultas en el Grupo A y el 67% del Grupo B se produjeron dentro de los primeros 21 días pos-inoculación, no encontrándose diferencia significativa entre ambos grupos en estudio ( $p = 0.15$ ). El resto de las consultas se presentaron entre los 22 y 90 días pos-vacunación.

Se notificó un total de tres eventos colaterales graves, entendiéndose por tales una hospitalización por síndrome febril inespecífico (SFEI) en el Grupo A, una muerte violenta y un aborto espontáneo, ambos en el Grupo B, ninguno de los cuales estuvo relacionado con las vacunas. Al respecto, es médicamente significativo que el aborto fue uno de cuatro embarazos que se produjeron dentro de los tres meses pos-vacunación. El aborto resultó en huevo huero y los tres embarazos restantes culminaron con recién nacidos normales.

Los eventos adversos leves relacionados con la vacunación y más frecuentemente notificados dentro de los 21 días pos-vacunación fueron: cefalea, mareos, decaimiento, dolor retroocular, exantema, lumbalgia, mialgias, náuseas y/o vómitos, SFEI, leucopenia, plaquetopenia y microhematuria. La frecuencia y distribución de estos eventos se presenta en la Tabla 4. Las diferencias observadas para cada uno de ellos no fueron significativas, a excepción de los SFEI, que se presentaron en 10 vacunados del Grupo A y en 22 del Grupo B ( $p = 0.04$ ).

Los eventos locales fueron todos de escasa significación clínica y se registraron en 62/ 475 (13%) vacunados en el Grupo A y 71/471 (15%) vacunados en el Grupo B. Las diferencias no fueron significativas ( $p = 0.41$ ). Los eventos adversos locales de importancia fueron: molestia y dolor en el sitio de inoculación en 59 del Grupo A y 68 del Grupo B ( $p = 0.41$ ) y dureza en el sitio de inocula-

ción en 6 del Grupo A y 6 del Grupo B ( $p = 0.78$ ). La duración media ( $\bar{X} + SD$ ) de estos eventos no superó los  $3.33 \pm 0.89$  días.

Previo a la inoculación, no se encontraron diferencias significativas entre grupos en el recuento de glóbulos blancos, fórmula leucocitaria, recuentos de plaquetas, hematocrito, hemoglobina y en las variables relativas al examen de orina, cuyos valores resultaron dentro de parámetros normales. Estos resultados permanecieron sin modificaciones significativas en el control de los 15 días pos-vacunación (datos no mostrados), excepto en 11 vacunados del Grupo A y 11 del Grupo B, en los cuales se registraron recuentos de glóbulos blancos inferiores a 4 000 por  $\text{mm}^3$ . Los recuentos medios de estos dos grupos no registraron diferencias significativas ( $p = 0.12$ ). Lo mismo se observó en relación al recuento de plaquetas, excepto en 36 vacunados del Grupo A y 33 del Grupo B que presentaron recuentos inferiores a 150 000 por  $\text{mm}^3$ . Los recuentos medios tampoco registraron diferencias significativas ( $p = 0.27$ ).

En el período de 22 a 60 días pos-vacunación se recibieron 84 informes de efectos colaterales en el Grupo A y 94 en el Grupo B, ninguno relacionado con la vacunación.

## Discusión

Los resultados presentados en este trabajo demuestran que la vacuna C#1 producida en la Argentina es equivalente a la producida en los EE.UU. en su capacidad para inmunizar contra el JUNV.

Los ensayos clínicos en fases I, II y III de la vacuna C#1, realizados entre 1985 y 1991 con vacuna producida en EE.UU.<sup>17,25</sup>, culminaron con la demostración de su eficacia para proteger contra la FHA. Desde 1992 se transfirió el proceso de producción y control de calidad al INEVH, trabajando ambos productores con la misma semilla vacunal<sup>19</sup>. Con el lote N° 7 A aprobado por el Instituto Nacional de Alimentos y Medicamentos (INAME-ANMAT), se debió iniciar un estudio clínico por tratarse de un producto resultado de tecnología transferida a un nuevo productor, quien es responsable de mostrar que el producto es equivalente al que se usó en los estudios clínicos previos.

Estos estudios clínicos deben diseñarse con un poder adecuado para establecer comparabilidad de la respuesta inmune relevante y para evaluar efectos colaterales comunes. Cuando existe un correlato serológico de protección clínica, un estudio controlado de inmunogenicidad puede ser suficiente<sup>20</sup>.

Este ensayo se diseñó para establecer la comparabilidad de la respuesta inmune a ambas vacunas y para cubrir los requerimientos regulatorios para el registro de la vacuna elaborada en la Argentina. La diferencia en la

inmunogenicidad observada entre ambas vacunas (2.3%) fue menor que la estimada bajo la hipótesis nula (7%), demostrándose que la vacuna argentina (Grupo A) tiene una inmunogenicidad equivalente a la vacuna estadounidense (Grupo B). Ambas vacunas tuvieron una inmunogenicidad superior al 95.5%, que es la eficacia estimada para C#1.

Por otra parte, se encontró que los eventos adversos relacionados con C#1 fabricada por ambos productores no fueron graves y resultaron esperables con base en los datos obtenidos durante el ensayo de eficacia realizado entre 1988 y 1990<sup>17</sup>. Todos los eventos adversos considerados relacionados fueron de escasa significación clínica y desaparecieron espontáneamente o con el uso de tratamiento sintomático.

Las diferencias entre las tasas de presentación de eventos de ambas vacunas no fueron de significación, a excepción de fiebre y mialgias y del evento SFEI, que se presentó con mayor frecuencia entre los vacunados en el Grupo B.

En este estudio se enfatizó la búsqueda activa de eventos adversos, ya que los estudios previos se basaron en informes pasivos. Los eventos relacionados registrados en este ensayo clínico son los mismos que en todos los estudios realizados, aunque con mayores tasas en este trabajo, reflejando el sistema activo utilizado.

Los datos aquí presentados demuestran que la vacuna C#1 producida en la Argentina tiene atributos de inmunogenicidad y seguridad equivalentes a la producida en EE.UU. y permiten también extrapolar desde resultados previos que esta vacuna es eficaz para la prevención de la FHA. Estos resultados permitieron obtener el registro de C#1 como nueva especialidad medicinal ante ANMAT (Registro N° 53205). Desde enero de 2007 la vacuna C#1 forma parte del Calendario Nacional de Inmunizaciones en el área con riesgo de FHA.

Candid#1 es la primera vacuna eficaz contra un arnavirus y la primera vacuna huérfana que logra su registro. Los estudios hasta ahora realizados permiten su uso en las personas mayores de 15 años de ambos sexos. Los datos obtenidos de estudios longitudinales de los títulos de anticuerpos específicos demuestran que la respuesta inmune generada por C#1 persiste por años<sup>26</sup>, por lo que la inmunización de la población en riesgo se lograría administrando una dosis única por individuo, dato relevante al momento de evaluar diseño y costos de las campañas de inmunización. La utilización de esta vacuna ha sido un factor decisivo en la disminución del número de casos de FHA en la población adulta expuesta a mayor riesgo<sup>27</sup>. Sin embargo, los datos epidemiológicos más recientes registran un incremento relativo en la incidencia de FHA en menores de 15 años. Además, resultados preliminares obtenidos en un estudio de riesgo-beneficio sugieren la necesidad de evaluar el uso de C#1 en niños<sup>28</sup>.

Con cantidades suficientes de vacuna C#1 disponibles se podrían diseñar mejores estrategias de vacunación a fin de lograr el definitivo control de esta epidemia. Sin embargo, se debe tener en cuenta que aun con buenas coberturas de vacunación se deben esperar futuros casos aislados y aun la ocurrencia de brotes limitados de la enfermedad. Por ello, el sistema de vigilancia de casos debe permanecer activo, así como la búsqueda de JUNV circulante en sus reservorios naturales<sup>29</sup>.

En conclusión: los datos aquí presentados adquieren particular importancia no sólo por la probabilidad cercana de controlar efectivamente las epidemias de FHA, sino también porque este logro se realiza con un producto biológico manufacturado totalmente en la Argentina con la aplicación de tecnología transferida, siendo C#1 la primera vacuna de su tipo en registrarse en el país.

**Agradecimientos:** Los autores desean expresar su agradecimiento a: María Albani, Cristina Albani, Cristina Ardovali, Marcelo Biglieri, Diego Bonanno, Claudia Caporalini, Mónica Desanzo, Carlos Díaz, Mara Eraso, Patricia Gómez, Griselda Gonino, Fabián Grosso, Pablo Lancillota, Ida Mariguan, Germán O'Duyer, Cecilia Paganini, Carlos Pastore, Patricia Pastore, Iván Pellegrino, César Polidoro, Adriana Salas, María Esther Torres y a todo el personal del INEVH por el excelente desempeño en el presente trabajo.

Al Patrocinador del estudio, Dr. Gustavo Ríos y a los Dres. María Frías y Daniel Pizzi.

A los Comités: de Evaluación Ética de Investigaciones Biomédicas del INEVH, Institucional de Ética en la Investigación en Salud del Hospital Pediátrico del Niño Jesús de la provincia de Córdoba, de Seguimiento de Seguridad de la Información: Dr. Alfredo Seijo, Dra. Mercedes Weissenbacher y Dr. Hugo Fernández.

A los Dres. Oscar Conti y Carlos Furnari y al personal del Laboratorio Pergamino.

A los responsables de la monitorización del estudio: Patricia Saidón, Laura Pregliasco, Fanny Kataife, Betina Dellarossa, Pablo Guzzo, Dalia Schejtman, Héctor Piscutelli.

A los médicos y laboratorios acreditados así como a la comunidad y comisiones de apoyo del área endémica que colaboraron incondicionalmente.

A los Ministerios de Salud de las Provincias de Santa Fe, Córdoba y Buenos Aires.

A los directivos de Agricultores Federados Argentinos.

A la Fundación Dr. Julio Maiztegui para el Desarrollo Científico y Tecnológico Regional.

Este trabajo fue en parte financiado por el proyecto de SECYT-FONTAR Contrato de Crédito CAI N° 102.

**Conflictos de interés:** Los autores declaran no tener conflictos de intereses

## Bibliografía

1. Arribalzaga RA. Una nueva enfermedad epidémica a germen desconocido: hipertermia nefrotóxica, leucopénica y exantemática. *Día Médico* 1955; 27: 1204-10.
2. Parodi AS, Geenway DJ, Rugiero HR, et al. Sobre la etiología del brote epidémico de Junín. *Día Médico* 1958; 30: 2300-1.
3. Piroosky I, Martini P, Zuccarini J, et al. Virosis hemorrágica del noroeste bonaerense (endemoepidémica, febril, exantemática y leucopénica): V, la vacuna específica y la vacunación. *Orientación Médica* 1959; 8: 743-4.
4. Maiztegui JI, Sabattini MS. Extensión progresiva del área endémica de Fiebre hemorrágica argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 1977; 37: 162-6.
5. Sabattini MS, Contigiani MS. Ecological and biological factors influencing the maintenance of arenaviruses in nature, with special reference to the agent of Argentine hemorrhagic fever. En: F.D. Pinheiro (ed). International Symposium on Tropical Arbovirus and Hemorrhagic Fevers. Río de Janeiro: Academia Brasileira de Ciencias, 1982, p 251-62.
6. Mills JN, Ellis BA, McKee KT, et al. A longitudinal study of Junin virus activity in the rodent reservoir of Argentine hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 47: 749-63.
7. Enría DA, Briggiler AM, Feuillade MR. An overview of the epidemiological, ecological and preventive hallmarks of Argentine Hemorrhagic Fever (Junin virus). *Bull Inst Pasteur* 1998; 96: 103-14.
8. Guerrero LB. Vacunas experimentales contra la fiebre hemorrágica argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 1977; 37: 252-9.
9. Barrera Oro JG, Mc Kee KT, Jr. Hacia una vacuna contra la Fiebre Hemorrágica Argentina. *Bol Of Sanit Panam* 1992; 112: 296-305.
10. McKee KT Jr, Barrera Oro JG, Kuehne AI, et al. Candid #1 Argentine Hemorrhagic Fever vaccine protects against lethal Junin virus challenge in Rhesus macaques. *Intervirology* 1992; 34: 154-63.
11. Barrera Oro JG, McKee KT Jr, Kuehne AI, et al. Preclinical trials of a live, attenuated Junin virus vaccine in Rhesus macaques. Paris, France: Institut Pasteur Symposium on Vaccines and Vaccinations; 1985: P28.
12. Barrera Oro JG, Lupton HW, Jahrling PB, et al. Cross protection against Machupo virus with Candid #1 live-attenuated Junin virus vaccine. Mar del Plata, Argentina: I. The postvaccination prechallenge immune response. Second International Conference on Comparative Virology, 1988: P.E1.
13. Jahrling PB, Trotter RW, Barrera Oro JG, et al. Cross-protection against Machupo virus with Candid #1 Junin virus vaccine: III, post-challenge clinical findings. Mar del Plata, Argentina: Second International Conference on the Impact of Viral Diseases on the Development of Latin American Countries and the Caribbean Region, 1988: P. E3.
14. Lupton HW, Jahrling PB, Barrera Oro JG, et al. Cross-protection against Machupo virus with Candid #1 live-attenuated Junin virus vaccine: II, post-challenge virological and immunological findings. Mar del Plata, Argentina: Second International Conference on the Impact of Viral Diseases on the Development of Latin American Countries and the Caribbean Region, 1988: PE2.
15. MacDonald C, McKee K, Peters C, et al. Initial clinical assessment of humans inoculated with a live-attenuated Junin virus vaccine. Edmonton, Canada: Programs and abstracts of the VII International Congress of Virology, 1987: R3.27.
16. Maiztegui JI, McKee KT Jr. Inoculation of human volunteers with a vaccine against Argentine hemorrhagic fever. Banff, Canada: Program and abstracts of the VI International Conference on Comparative and Applied Virology, 1989: S4.
17. Maiztegui JI, McKee KT Jr, Barrera Oro JG, et al.

- Protective efficacy of a live attenuated vaccine against Argentine Hemorrhagic Fever. *J Infect Dis* 1998;177: 277-83.
18. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration "The Orphan Drug Act", EEUU. En: <http://www.fda.gov/orphan/oda.htm>, consultado 23/11/2009.
  19. Ambrosio AM, Saavedra MC, Riera LM, Fassio RM. La producción nacional de vacuna a virus Junin vivo atenuado (Candid #1) anti-fiebre hemorrágica argentina. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2006; 40: 5-17.
  20. WHO Guidelines on Clinical Evaluation of Vaccines: Regulatory Expectations. 52 nd Report: Technical Report Series Nº 924, ANNEX 1. World Health Organization, 2004.
  21. Weissebacher MC, Guerrero LB, Parodi AS. Acción de los inmunoseros en la fiebre hemorrágica argentina experimental. *Medicina (Buenos Aires)* 1968; 28:53-8.
  22. Maiztegui JI, Fernández NJ, Damilano AJ. Efficacy of immune plasma in treatment of Argentine hemorrhagic fever and association between treatment and late neurological syndrome. *Lancet* 1979; 8154: 1216-7.
  23. Enria DA, Briggiler AM, Fernández NJ, et al. Importance of dose of neutralizing antibodies in treatment of Argentine hemorrhagic fever with immune plasma. *Lancet* 1984; 8397: 255-6.
  24. Ambrosio A, Saavedra C, Sottosanti M, Riera L. Comparación de neutralización y ELISA en el estudio de la respuesta inmune de vacunados contra la Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA). XLIII Reunión de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica. *Medicina (Buenos Aires)* 1998; 58 (5/2): 674.
  25. Enria DA y Barrera Oro JG. Junin virus vaccines. En: MBO Oldstone – Springer – Verlag (eds). *Arenaviruses II. Current Topics in Microbiology and Immunology*; 2002, 263: 239-64.
  26. Levis S, Feuillade MR, Enria DA, et al.. Persistencia de la inmunidad humoral específica en receptores de la vacuna Candid 1 contra la Fiebre Hemorrágica Argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 1993; 53: 131-2.
  27. Enria DA, Feuillade MR, Levis SC, et al. Impact of vaccination of a high risk population for Argentine hemorrhagic fever with a live attenuated Junin virus vaccine. En: JF Saluzzo, B Dodet (eds). *Factors in the Emergence and Control of Rodent-borne Viral Diseases*. Paris, France: Elsevier SAS,1999, p 273-80.
  28. Feuillade MR, Enria D. Análisis de la utilidad de la vacuna Candid 1 en la prevención de la Fiebre Hemorrágica Argentina en niños. *Revista Panamericana de Salud Pública* 2005;18: 100-6.
  29. Polop J, Porcasi X, Calderón G, et. al. Sensores remotos en el estudio de enfermedades zoonóticas. *Revista Journal Selper*, edición especial 2005, 2: 8-13.

-----

LA TAPA

**Ernesto Bertani. Bandelápices, 2009**

Acrílico sobre lienzo, 90x130 cm.

Cortesía del autor y de Zurbarán, *El Arte de los Argentinos*.

Ernesto Bertani nació en Buenos Aires en 1949. Dibujante y pintor. Estudió escultura con Leonardo Rodríguez y pintura con Víctor Chab. Desde 1976 expuso en galerías, salones y bienales del país y el exterior.

En el último año realizó exposiciones individuales en Zurbarán y en el Centro Cultural Recoleta (Buenos Aires). Obtuvo numerosos premios, en Dibujo y Pintura, entre otros el Gran Premio de Honor Salón Nacional de Dibujo (1994), y el Gran Premio de Honor Salón Nacional, Sección Pintura (2002). Los porteños son personajes centrales en sus obras.

La banderas son un tema recurrente en su obra. A propósito de *Bandelápices* dice Bertani en una entrevista: "Otra bandera está hecha con lápices, porque lo relaciono con la creatividad; tenemos que ser muy creativos para regenerar esa trama a la que pertenecemos, que está tan deteriorada". (Volver al origen. Entrevista de Celina Chatruc, *La Nación*, **adn**CULTURA, 20 de febrero de 2010, p 24-5).