

PRINCIPIOS DE LAS PRUEBAS DE VACUNAS CONTRA LA MALARIA: MEMORANDUM DE UNA REUNION DE LA OMS¹

Organización Mundial de la Salud

INTRODUCCION

A pesar de los notables resultados de las medidas intensivas para combatir la malaria desde la década de 1950 hasta la de 1970, la enfermedad continúa siendo un importante problema de salud en muchos países tropicales y subtropicales. La situación de la malaria en 1982 se resumió de la manera siguiente:

“De una población mundial total de 4 574 millones, alrededor de 1 292 millones (28%) viven en zonas donde nunca existió la malaria o desapareció sin medidas antimaláricas específicas. Unos 800 millones de personas (18%) habitan zonas donde la enfermedad se ha eliminado en décadas recientes gracias a mejoras sanitarias generales, modificación del ambiente y medidas

eficaces contra la enfermedad. El 46% de la población mundial, 2 117 millones de personas, viven en lugares donde las medidas contra la enfermedad han disminuido su incidencia en grados diversos que varían desde una reducción leve de la endemidad original hasta su eliminación casi total en ciertas zonas. Unos 365 millones de personas (8%) habitan lugares donde no se han aplicado medidas específicas contra la malaria, por lo que en dichas zonas los grados originales de endemidad prácticamente no se han modificado” (1).

Esas últimas zonas incluyen la mayor parte de Africa tropical, donde la malaria es predominantemente hiperendémica u holoendémica y el *Plasmodium falciparum* es la especie parasitaria dominante. Se estima que solo el número de casos de malaria clínica aguda es del orden anual de 90 a 100 millones. Existe, además, un gran reservorio de infecciones crónicas con escasos síntomas (oligosintomáticas). En Africa tropical, la mortalidad causada por la malaria falciparum es considerable, especialmente en personas jóvenes no inmunes.

¹ Se publicó en el *Bulletin of the World Health Organization* Vol. 64, No. 2, 1986, con el título “Principles of malaria vaccine trials: Memorandum from a WHO Meeting”. © Organización Mundial de la Salud, 1986. Este memorándum se basa en parte en el documento TDR/IMMAL-FIELDMAL/VAC/85.3 redactado por los participantes en la reunión de los Grupos Científicos de Trabajo en Inmunología de la Malaria e Investigaciones sobre la Malaria del Programa Especial PNUD/Banco Mundial/OMS de Investigaciones y Enseñanzas sobre Enfermedades Tropicales, realizada en Ginebra, Suiza, del 4 al 8 de febrero de 1985.

La situación de los últimos 15 años muestra claramente que no se puede lograr la eliminación mundial de la malaria con los medios actualmente disponibles y, por consiguiente, la estrategia actual se basa en criterios realistas acerca de la lucha antimalárica (2), en cuya aplicación se espera que la atención primaria de salud asuma un importante papel (3). No obstante, aun en el caso de los objetivos más modestos de la lucha antimalárica, siguen existiendo las mismas restricciones que obstaculizaron el progreso de la erradicación mundial de la enfermedad, a saber, dificultades administrativas y económicas y problemas técnicos. Estos últimos incluyen la difundida resistencia de los vectores anofeles a los insecticidas (4), la aparición y propagación de resistencia a la cloroquina, la creciente multirresistencia de *P. falciparum* en grandes zonas tropicales (5), el comportamiento exofílico de ciertos vectores anofeles, así como factores relacionados con la ecología humana, tales como trashumación y actitudes sociales. Estos obstáculos han invalidado, en parte o por completo, las medidas tradicionales contra la malaria.

Teniendo en cuenta esta situación insatisfactoria y peligrosa, el Programa Especial PNUD/Banco Mundial/OMS de Investigaciones y Enseñanzas sobre Enfermedades Tropicales ha planeado y ejecutado investigaciones destinadas a mejorar el control de la malaria. Parte de ese programa se centra en la obtención o perfeccionamiento de instrumentos y métodos tradicionales, mientras que otra se dirige a la exploración de enfoques innovadores, tales como el con-

trol del vector mediante agentes biológicos y el control del parásito mediante vacunas.² Las investigaciones relacionadas con la inmunización contra la malaria han progresado notablemente en los últimos años de modo que, en un futuro no muy lejano, las vacunas antimaláricas con toda posibilidad desempeñarán una función esencial en el control de la enfermedad.

ENFOQUES ACTUALES EN EL DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA LA MALARIA

De acuerdo con las predicciones actuales, las vacunas contra la malaria se basarán en antígenos puros del parásito que estimulen específicamente respuestas inmunitarias protectoras. En varias de las etapas de desarrollo del parásito se hallan presentes antígenos protectores y las vacunas futuras podrían contener uno o más de ellos. Actualmente, las investigaciones se centran en el *P. falciparum*.

La estrategia para el desarrollo de vacunas incluye la identificación y caracterización de antígenos parasitarios protectores, la clonación de los genes correspondientes y su expresión en las bacterias, el análisis de la secuencia de sus nucleótidos y la deducción de la secuencia de aminoácidos en la molécula codificada. Mediante métodos de ingeniería genética o síntesis química, se podría producir el epitopo protector, es decir, la porción inmunógena de la molécula del antígeno. En el intento de identificar

² Report of the Steering Committees of the Scientific Working Groups on Malaria, June 1980-June 1983. Documento inédito TDR/MAL/SC-SWG (80-83)/83.3 (1983).

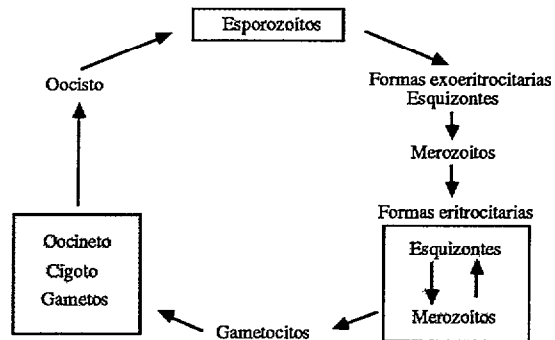
antígenos protectores en los plasmodios, se ha prestado mayor atención a aquellos antígenos que están expuestos al sistema inmunitario, ya sea en la superficie del parásito o en la membrana del eritrocito infectado. Los objetivos diana en la actuación de la vacuna serían: los esporozoitos, los estadios eritrocitarios asexuados y los gametos u otras formas que se desarrollan en el intestino medio del mosquito. La figura 1 resume el ciclo biológico del *Plasmodium* y los puntos potenciales de actuación de las vacunas.

Estos tres tipos principales de vacuna antimalárica que están en proceso de desarrollo producirán efectos diferentes en las personas vacunadas y se espera que puedan aplicarse a distintos grupos de población y en diversas situaciones epidemiológicas. En la malaria, la inmunidad es estadio-específica, de modo que una vacuna contra el esporozoito no protegería frente a la malaria inducida por la presencia de formas eri-

trocitarias asexuadas en la sangre transfundida. La vacuna basada en los gametos tampoco protegería contra la infección inducida por esporozoitos y el subsiguiente desarrollo de la enfermedad.

Actualmente, las investigaciones relacionadas con vacunas antimaláricas están progresando con rapidez. Se ha efectuado la clonación del gen que codifica el antígeno protector del esporozoito de *P. falciparum* y se ha producido el antígeno en *Escherichia coli*. También se ha sintetizado químicamente el epítopo inmunodominante y se está explorando la posibilidad de producir el antígeno en vaccinia y en otros microorganismos manipulados por ingeniería genética. Se han identificado varios presuntos antígenos protectores en los estadios eritrocitarios asexuados de *P. falciparum* y se han clonado los genes que codifican algunos de esos antígenos. Además, se han identificado los antígenos diana de la inmunidad que bloquea la transmisión y se está progresando en la clonación de los genes pertinentes. En consecuencia, pronto se podrán someter a evaluación varias vacunas preparadas

FIGURA 1. Ciclo biológico de los parásitos de la malaria y formas que constituyen el objetivo de las vacunas



El sombreado indica las formas que constituyen el objetivo de las vacunas.

con antígenos experimentales. Hay información adicional disponible sobre investigaciones recientes relacionadas con vacunas antimaláricas (6).³

ETAPAS **AVANZADAS EN EL DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA LA MALARIA**

Consideraciones generales

En el momento presente, hay tres tipos de vacunas que estarán listas para ensayos de campo y cada una de ellas tendrá sus propias características funcionales. Una vacuna contra los esporozoitos, si es totalmente eficaz, impedirá el desarrollo de los plasmodios en el huésped y, por consiguiente, inducirá una inmunidad estéril. No se producirá entonces la parasitemia sexual o asexual o la enfermedad clínica y el sujeto no podrá ser una fuente de infección para los mosquitos. Una vacuna de este tipo, aplicada a grupos de población suficientemente amplios, podrá interrumpir de forma eficiente la transmisión natural de la malaria. Sin embargo, los sujetos efectivamente inmunizados contra los esporozoitos seguirán siendo sensibles a la exposición de formas eritrocitarias asexuadas del parásito y, tras una exposición de ese tipo, por ejemplo mediante la transfusión de sangre infectada, presentarían parasitemia y enfermedad clínica, se desarrollaría gametocitemia y los sujetos infectarían a los mosquitos. Las indicaciones para el empleo de las vacunas

contra los esporozoitos en el marco de la lucha antimalárica dependerán en gran medida de la duración de la protección lograda. Para definir esas indicaciones, será importante evaluar la función de la exposición natural en relación con la inmunidad protectora.

Se espera que una vacuna contra los estadios eritrocitarios asexuados induzca una inmunidad que restrinja la replicación de las formas hemáticas asexuadas del parásito sin inducir necesariamente inmunidad estéril. Por consiguiente, su función consistirá en reducir la morbilidad y la mortalidad debidas a la malaria. No obstante, las personas inmunizadas con este tipo de vacuna seguirán siendo susceptibles a la infección por esporozoitos y el desarrollo del parásito en el hígado proseguirá sin obstáculos; se puede producir una parasitemia leve de formas asexuadas y evolución normal de la gametocitogénesis, de manera que las personas inmunizadas seguirían siendo capaces de infectar a los mosquitos. En consecuencia, es poco probable que las vacunas contra las formas hemáticas asexuadas logren por sí solas interrumpir la transmisión de la malaria en una zona endémica. Sin embargo, se podrían aplicar a grupos muy susceptibles en zonas endémicas para inducir un grado de inmunidad que previniera la enfermedad grave después de la infección. El objetivo sería conferir un grado de protección equivalente a la que normalmente se obtiene solo después de varias infecciones en zonas endémicas. La infección posterior podría reforzar la respuesta inmunitaria inducida por la vacuna.

³ *Asexual blood stage and transmission-blocking antigens of Plasmodia*. Informe de la sexta reunión del Grupo Científico de Trabajo sobre Inmunología de la Malaria, 26 al 28 de marzo de 1984. Documento inédito TDR/IMMAL/SWG(6)/84.3(1984).

El tercer tipo de vacuna actuará induciendo en el huésped humano la producción de anticuerpos séricos que bloqueen eficazmente la fecundación de la hembra por los gametos masculinos dentro del intestino del mosquito, o inactiven el cigoto fecundado o el oocineto. Aparentemente, esas vacunas de bloqueo de la transmisión podrán interrumpir la transmisión de la malaria a nivel del mosquito, pero no protegerán al huésped humano contra los esporozoitos, formas hepáticas o estadios de las formas hemáticas asexuadas, ni impedirán el desarrollo de gametocitemia. Sin embargo, se espera que reduzcan la tasa general de transmisión de la malaria en zonas endémicas y, por lo tanto, contribuyan sustancialmente al control de la enfermedad. Probablemente se usarán esas vacunas en combinación con una que proteja contra los esporozoitos o las formas eritrocitarias asexuadas o ambas, quizá en asociación con otras medidas de lucha antimalárica.

En síntesis, parece probable que solo las vacunas contra las formas hemáticas asexuadas podrán inducir una inmunidad similar a la adquirida por las poblaciones que viven en regiones sumamente endémicas donde la infección natural no parece conducir a una inmunidad eficaz contra los esporozoitos o a la adquisición de inmunidad que bloquee la transmisión. En esas zonas, el objetivo más apropiado del empleo de una vacuna contra las formas hemáticas asexuadas, independientemente de otras medidas, será la inmunización de niños menores de cuatro años, que sufren el peso de la morbilidad y mortalidad de la

malaria. El propósito de la administración de esta vacuna limitada sería inducir en los niños pequeños una inmunidad que eliminara la morbilidad grave y la mortalidad, y que fuera reforzada por la reinfección.

Tanto las vacunas contra los esporozoitos como las que bloquean la transmisión, que podrían usarse con el fin de interrumpir la transmisión, para que resulten eficaces tendrán que administrarse a cuantas personas de todas las edades sea posible. También será necesario repetir la vacunación a intervalos apropiados para mantener una inmunidad efectiva hasta que se logre la interrupción de la transmisión. Ambos tipos de vacunas pueden tener aplicaciones especiales para limitar la propagación epidémica de la malaria, en tanto que la vacuna contra los esporozoitos parece particularmente adecuada para proteger a personas no inmunes (por ejemplo, integrantes de las fuerzas armadas, personal encargado de explotaciones petroleras, etc.) que deben estar en zonas endémicas donde prevalecen los parásitos farmacorresistentes. Esta vacuna también se podría usar para proteger a los niños pequeños en zonas de alta endemicidad, si bien tal vez sea preciso emplear dosis de refuerzo. Este empleo podría reducir con el tiempo las infecciones naturales, aunque los niños originalmente protegidos tendrán que ser revacunados cuando sean mayores. Bajo estas circunstancias y si los resultados obtenidos en grupos de menor edad justifican la medida, podría ser razonable incluir al resto de la población con el fin de lograr una reducción notable de la incidencia y la prevalencia de la malaria.

Eventualmente, cuando se disponga de los tres tipos de vacunas, puede ser conveniente usarlas en combinación. Sin embargo, hay que tener en cuenta que consideraciones de carácter epidemiológico, económico y logístico

pueden hacer necesario el empleo de una sola vacuna en lugar de varias. Estas consideraciones, así como los requisitos específicos de evaluación de la inocuidad y la eficacia, exigirán también que todos los tipos de vacunas se prueben y evalúen individualmente sobre el terreno antes de ensayar su uso combinado.

Si bien en el estado actual de la producción de vacunas antimaláricas es difícil definir con precisión el diseño de estudios preclínicos, clínicos y de campo, hay que recordar que en 1971-1975 se intentó la vacunación contra esporozoitos utilizando esporozoitos de *P. falciparum* y *P. vivax* irradiados con rayos X, que se inocularon mediante picaduras de mosquitos a voluntarios no expuestos previamente a la enfermedad. Estos ensayos audaces, rudimentarios en comparación con los actuales progresos en inmunología y biología molecular, proporcionaron la siguiente información:

□ De los 7 a 10 días desde la inoculación inicial, se pudo detectar inmunidad contra los esporozoitos.

□ La inmunidad era específica para la especie y el estadio del parásito pero no para la cepa, puesto que un aislado de *P. falciparum* y uno de *P. vivax* produjeron protección contra cepas de varios continentes, hecho que probablemente indique que la variación antigénica no era significativa en cuanto a esta forma de protección.

□ En los 10 días posteriores a la inmunización aparecieron anticuerpos contra los esporozoitos, específicos para la especie, que persistieron de 3 a 5 meses.

□ Se prolongó la protección durante 2 ó 3 meses mediante una dosis relativamente pequeña de refuerzo con esporozoitos no irradiados de cualquier cepa de la misma especie.

□ No se observaron efectos secundarios salvo la idiosincracia individual a las picaduras de mosquitos.

No hay dudas de que las perspectivas de las futuras vacunas son alentadoras. Sin embargo, existen ciertos problemas e impedimentos que hacen necesario efectuar una serie de ensayos en el hombre, incluyendo eventualmente a personas que residen en zonas de transmisión natural de la malaria. Dichos ensayos podrían introducir variables difíciles de evaluar y controlar: la inducción artificial de inmunidad después de la vacunación con antígenos de especies conocidas podría complicarse por inoculaciones naturales de la misma especie u otras, a causa de picaduras de mosquitos. Por otra parte, los voluntarios podrían tener cierto grado de inmunidad adquirida como resultado de infecciones naturales anteriores o concurrentes con cualquier especie, y esa inmunidad podría ser reforzada por la inoculación artificial. Estas posibilidades deben tenerse en cuenta al diseñar cada ensayo.

Las vacunas antimaláricas, como otras sustancias biológicas, difieren de los agentes puramente terapéuticos en que, en esencia, han sido preparadas para prevenir la infección, la enfermedad, o la mortalidad, si bien también pueden tener efectos curativos potenciales. En general, se usarán esas vacunas en personas que no están manifiestamente enfermas y con frecuencia en niños pequeños para proporcionar protección a largo plazo a los individuos y a la comunidad. Es imprescindible continuar vigilando a nivel local, nacional e internacional, los beneficios y riesgos del empleo de vacunas.

Estos son algunos de los problemas que afrontan quienes trabajan en la elaboración de cualquier vacuna, incluso la antimalárica; las personas que tendrán que aprobar su empleo o administrarlas encontrarán dificultades similares. Antes de que puedan ser contemplados los ensayos en el hombre, es preciso que se cumplan tres condiciones. Primero, se debe establecer la necesidad de la vacuna y estimar de manera realista su viabilidad. En segundo lugar, tanto la autoridad reguladora como el investigador principal y sus colegas deben estar convencidos de que las pruebas preliminares de laboratorio y de experimentación con animales han proporcionado la información necesaria sobre la inocuidad y la eficacia de la presunta vacuna, y de que existen indicios evidentes de los beneficios potenciales para los individuos, las comunidades, o ambos. En tercer lugar, toda prueba con seres humanos debe ser realizada bajo los auspicios o con el acuerdo de un organismo normativo de ética reconocido nacional e internacionalmente.

Los principios éticos que rigen las investigaciones biomédicas son aplicables al caso de las sustancias biológicas. No obstante, las pruebas de campo con sustancias biológicas plantean problemas especiales que es preciso considerar en relación con los códigos éticos actuales. Los códigos que establecen pautas para la participación de sujetos humanos en estudios sobre sustancias biológicas se han basado en principio en la Declaración de Helsinki de 1964, revisada en la 29ª Asamblea Médica Mundial realizada en Tokio, en 1975. Estos códigos se han ampliado para incluir investigaciones de campo que comprenden grupos y comunidades.

Además de estas normas generales, el informe de una conferencia internacional en 1976 establece criterios específicos sobre el diseño de ensayos de

campo, la participación de sujetos, la vigilancia de la inocuidad y la eficacia, y la elaboración de un producto biológico antes de su comercialización (7).

Estudios preclínicos

El propósito básico de los estudios preclínicos de vacunas experimentales avanzadas es proporcionar información que permita fundamentar la decisión de proseguir con los ensayos clínicos de fase I (a menudo se llama fase 0 a los estudios preclínicos). Además, con frecuencia se usan los datos obtenidos para modificar o mejorar el producto experimental e investigar los resultados esperados en el ser humano. Por ejemplo, algunos gobiernos exigen la presentación de datos a sus organismos reguladores antes de las pruebas clínicas con la vacuna, y esos datos deben confirmar que la vacuna es inocua para el hombre y que producirá una inmunidad funcional. Los requisitos dependen del tipo de vacuna y del método de elaboración pero, en general, se basan en análisis específicos y en pruebas *in vitro* e *in vivo* que, en la mayor medida posible, caracterizan el producto en términos de contenido, pureza, esterilidad, inmunogenicidad y toxicidad. La vacuna experimental propuesta para ensayos clínicos debe ser producida de acuerdo con buenas prácticas de fabricación y probada según las pautas publicadas por la OMS (8-10) y por las autoridades reguladoras nacionales. Por ejemplo, en los Estados Unidos de América, las disposiciones generales concernientes a las sustancias biológicas son aplicables a las vacunas.

Aspectos específicos relacionados con determinados productos deben ser examinados caso por caso por el organismo gubernamental pertinente. Cualquier cuestión específica relacionada con un producto determinado debe ser discutida según el caso con el organismo gubernamental pertinente. En la mayoría de los países tecnológicamente avanzados, las pruebas de laboratorio efectuadas durante las investigaciones sobre vacunas experimentales y usadas para respaldar la solicitud de aprobación de una vacuna nueva, deben realizarse en las condiciones especificadas por las buenas prácticas de laboratorio. En este sentido, será conveniente tener en cuenta los principios de la evaluación preclínica de vacunas inactivadas nuevas (que aparecen en el Anexo II del informe completo)⁴, las cuales también tienen una amplia aplicación en las vacunas antimaláricas.

Tipos de vacuna y metodología de la elaboración. En los dos últimos años, se ha progresado considerablemente en el desarrollo de vacunas contra la malaria en el hombre. Es necesario considerar un gran número de vacunas potenciales porque existen cuatro especies de parásitos maláricos que atacan al hombre (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*) y cuatro estadios o fases del ciclo biológico de los parásitos, tres de los cuales consti-

tuyen actualmente el objetivo de las investigaciones sobre vacunas (los esporozoitos, las formas eritrocitarias asexuadas y los estadios sexuales y asociados). Ello implica la existencia de 12 vacunas "candidatas" o grupos de candidatas. Actualmente parece factible preparar vacunas mediante la tecnología del ADN recombinante (ADNr) o por síntesis química, una vez que se haya identificado un inmunógeno apropiado para las vacunas en la labor experimental y que se hayan establecido métodos adecuados para cuantificar el antígeno. Se han expresado varios presuntos antígenos protectores en *Escherichia coli* y se está explorando la posibilidad de producir antígenos para las vacunas antimaláricas en virus recombinantes vivos (vaccinia) y otros portadores microbianos.

Las vacunas antimaláricas que se están estudiando podrían estar constituidas por pequeños péptidos sintéticos acoplados a un portador, o moléculas proteínicas de diversos tamaños producidas mediante la tecnología del ADNr. Esos antígenos podrían integrarse en la vacuna con o sin un adyuvante. Cualquiera que sea la fuente del inmunógeno o el método usado para prepararlo, el producto debe ser caracterizado en forma adecuada y es preciso establecer un sistema de producción que permita obtener y volver a producir el antígeno con un grado aceptable de pureza.

La OMS ha establecido pautas generales para la producción y el control de calidad de productos para vacunas, los requisitos específicos que deben satisfacer determinadas vacunas y, recientemente, los productos obtenidos con la tecnología del ADNr (11). Se hace hincapié en que es preciso estipular condiciones específicas según el caso. Además de las pautas de la OMS, en muchos países las autoridades nacionales reguladoras han establecido sus propios requisitos y documentos de consulta.

⁴ Principles of malaria vaccine trials: report of a joint meeting of the Scientific Working Groups on Immunology of Malaria and on Applied Field Research in Malaria. (Documento TDR/IMMAL-FIELDMAL/VAC/85.3) (1985). Se dispone de una cantidad limitada de copias de este documento, que se puede solicitar a la Oficina del Director, TDR, Organización Mundial de la Salud, 1211 Ginebra 27, Suiza.

Caracterización del inmunógeno. Se puede caracterizar el inmunógeno usando tres tipos de métodos:

□ métodos fisicoquímicos; por ejemplo, determinación de la secuencia de aminoácidos, electroforesis en gel de poliacrilamida o cromatografía líquida de alta resolución;

□ pruebas inmunológicas; por ejemplo, análisis de epitopos con anticuerpos monoclonales contra la malaria;

□ pruebas biológicas; por ejemplo, detección de la inmunidad humoral o mediada por células con el propósito de establecer una correlación con la inmunidad protectora.

Estas pruebas también sirven para determinar la homogeneidad entre distintos lotes de producción. Se recomienda comparar la secuencia primaria de aminoácidos del antígeno de la malaria en una vacuna con proteínas de origen humano cuyas secuencias primarias de aminoácidos se conocen, para establecer su homología, usando una base de datos y un programa de computadora adecuados.

Pruebas para detectar contaminantes. En las vacunas pueden estar presentes una serie de materiales contaminantes (por ejemplo, proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos) y también materiales biológicamente activos como pirógenos y contaminantes microbianos. Los métodos establecidos para detectar estos contaminantes se mencionan en publicaciones anteriores de la OMS (8, 12).

Otros componentes de las vacunas. Todos los componentes de una vacuna deben estar caracterizados en forma adecuada. Los aditivos destinados a aumentar la inmunogenicidad, como los adyuvantes y portadores, requieren atención especial, como se indica a continuación.

Adyuvantes. Cuando se usan antígenos de los parásitos de la malaria, probablemente se requieran adyuvantes para estimular la respuesta inmunitaria protectora. En la actualidad, los únicos adyuvantes que gozan de aceptación general para su empleo en el hombre son las sales de aluminio y, por regla general, estas sales estimulan las respuestas inmunitarias humorales más que las mediadas por células. Con algunos antígenos de parásitos maláricos, la protección contra exposición al parásito en modelos animales solo se ha podido lograr usando el adyuvante completo de Freund. Esto sería inaceptable en la práctica y es preciso preparar un adyuvante que estimule buenas respuestas humorales y mediadas por células así como protección, sin efectos secundarios nocivos. Los principales efectos secundarios que hay que evitar son las reacciones granulomatosas o de otro tipo en el sitio de inyección, fiebre, artritis, uveítis anterior y efectos carcinógenos y de autoinmunidad.

Portadores. Para inducir respuestas inmunitarias a péptidos y otras moléculas pequeñas, por lo general se requiere el acoplamiento a un portador. A efectos prácticos, puede bastar el acoplamiento a una proteína inmunógena, por ejemplo un toxoide bacteriano. Cuando se trata de la estandarización de vacunas, es necesario especificar la naturaleza del reactivo de acoplamiento y la proporción molar entre el antígeno y el portador. Las proteínas de fusión asociadas con proteínas parasitarias producidas mediante la tecnología del ADNr también pueden actuar como portadores. Se está investigando la

posibilidad de emplear portadores no inmunógenos, como los ácidos grasos. Se juzgará su eficacia por la inducción de respuestas inmunitarias eficaces contra elementos parasitarios determinantes y se establecerá la inocuidad de acuerdo con las normas convencionales. El desarrollo de hipersensibilidad a las proteínas de fusión debe ser considerado un efecto secundario nocivo.

Pruebas de seguridad. Se deben tener en cuenta las siguientes pruebas:

Pruebas de toxicidad en animales. Es mejor considerar caso por caso las pruebas específicas en animales que pudieran ser apropiadas. Si bien las vacunas inactivadas requieren investigaciones relativamente limitadas, cuando se trata de una vacuna preparada con parásitos vivos o con componentes que no se han usado antes en el hombre, es necesario realizar numerosas pruebas en animales, incluso las de carcinogenicidad, teratogenicidad y efectos sobre la fecundidad.

Potencia y estabilidad. Es preciso establecer pruebas para comprobar la potencia inmunológica de las vacunas y su estabilidad en las condiciones de almacenamiento que se emplearán durante los ensayos.

Inmunopatología. Puesto que la malaria puede producir en el hombre complicaciones inmunopatológicas, en todas las fases de ensayo es necesario investigar los potenciales efectos inmunitarios secundarios de las vacunas antimaláricas. En todas las etapas de desarrollo de las vacunas, se debe considerar la posibilidad de que la inmunización activa con un antígeno malárico determinado induzca una respuesta de autoinmunidad o aumente la expresión de la malaria en individuos con infección natural.

En la fase inicial de las pruebas de seguridad, se puede analizar la reactividad cruzada entre los epitopos principales de la presunta vacuna y los antígenos del tejido humano, usando anticuerpos específicos que reaccionan con los principales epitopos de la vacuna y que podrían indicar la unión con antígenos del tejido humano, empleando:

□ inmunofluorescencia en cortes de tejido humano apropiado y en linfocitos periféricos;

□ técnicas de aglutinación o radioinmunoensayo en eritrocitos humanos de distintos grupos sanguíneos y en plaquetas humanas;

□ ensayos de citotoxicidad en paneles de células para detectar anticuerpos contra antígenos antileucocitarios humanos (anti-HLA).

Pruebas de eficacia. Los sistemas adecuados de pruebas para estimar la inmunidad cumplen una función importante en la evaluación de las vacunas. Como el objetivo de la vacunación es inducir inmunidad protectora, una prueba de eficacia debe evaluar ese tipo de inmunidad más que la respuesta inmunitaria en general. La mayor parte de los sistemas de ensayo disponibles no reflejan directamente la protección inmunitaria. No obstante, las pruebas para determinar las respuestas inmunitarias humorales o mediadas por células proporcionan información importante sobre la inmunogenicidad de una vacuna. Esas pruebas también suministran información indirecta sobre el posible valor protector de una vacuna y, quizá, sobre su

mecanismo de acción cuando se relacionen los resultados de las pruebas con otros datos parasitológicos, clínicos y epidemiológicos incluidos en el ensayo de la vacuna.

En el Anexo III del informe completo se examinan los sistemas apropiados de ensayo para establecer la eficacia (véase la nota 4).

Estudios clínicos y de campo de las vacunas antimaláricas

Los objetivos generales de los estudios de vacunas antimaláricas son evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia en sujetos de distintas edades, orígenes étnicos y geográficos y antecedentes de exposición a la enfermedad, así como definir las condiciones óptimas para inducir y mantener una inmunidad funcional. Además, es preciso determinar las repercusiones epidemiológicas de la inmunización contra la malaria, incluso una estimación de la aceptabilidad y cumplimiento de los procedimientos de inmunización en comunidades o grupos de población en riesgo.

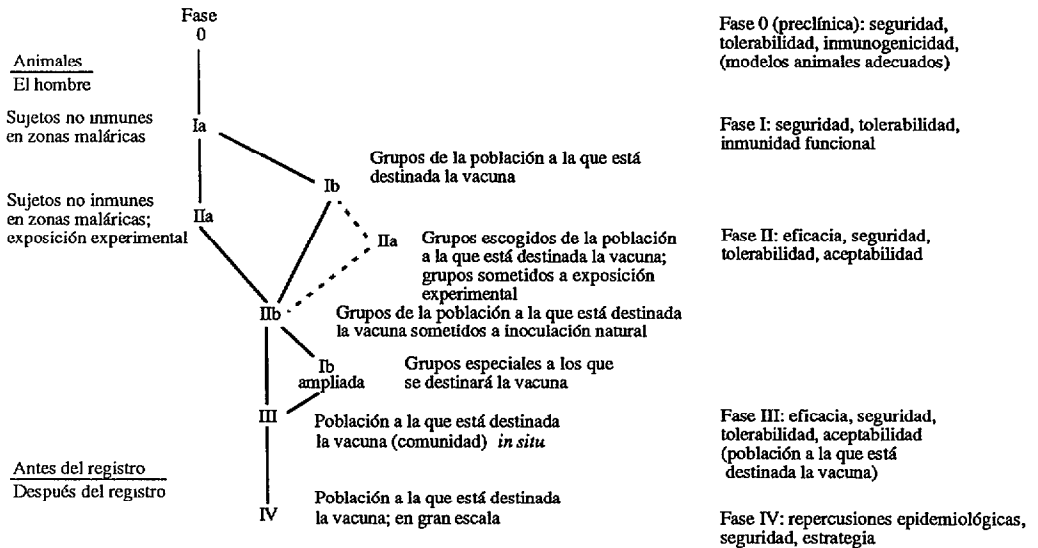
Al evaluar la seguridad de una vacuna antimalárica, puede resultar útil la experiencia adquirida con vacunas contra enfermedades bacterianas y víricas, que se sintetiza en el Anexo IV del informe completo (véase la nota 4). Por otra parte, teniendo en cuenta que las vacunas antimaláricas pueden basarse en antígenos obtenidos mediante la tecnología del ADN_r y asociados con adyuvantes y portadores y que en este caso existe el riesgo potencial de que las vacunas induzcan fenómenos inmunopatológicos, la seguridad de esas presuntas vacunas antimaláricas requiere una atención particular.

Definición de las fases. Si bien los objetivos antes mencionados exigirán numerosas investigaciones relacionadas entre sí en forma compleja, puede ser útil definir las principales fases de prueba de acuerdo con la secuencia general de estudios clínicos y de campo con vacunas y fármacos. Esa labor, por su misma naturaleza, es un proceso continuo, pero se definirán a continuación cuatro fases cuyas características y relaciones se muestran en la figura 2.

Fase I. Los ensayos se realizarán bajo estricta vigilancia médica, inicialmente en voluntarios adultos sanos del sexo masculino no inmunes, en zonas donde no sea endémica la malaria, con el fin de estimar la tolerabilidad sistémica y local y las respuestas inmunitarias a un antígeno malárico que en los estudios preclínicos (fase 0) ha demostrado ser inocuo e inmunógeno. Se administrará la vacuna ensayada con el fin de determinar las dosis óptimas para los ensayos de la fase II. Las pruebas también pueden incluir la comparación con un portador (cuando lo incluye la vacuna) y con un placebo; estos ensayos deben ser de tipo doble ciego, siempre que sea posible. La realización de los ensayos debe ajustarse a las disposiciones nacionales o locales que existan. Una vez que se hayan obtenido resultados aceptables en los estudios de seguridad y tolerancia en voluntarios sanos no inmunes, se pueden ampliar los ensayos de la fase I para incluir a voluntarios no maláricos o infectados oligosintomáticos de distintos grupos étnicos y de grupos especiales de poblaciones a las que se destinará la vacuna.

Fase II. El propósito de los ensayos de la fase II es comprobar que una vacuna antimalárica produce inmunidad protectora así como continuar monitorizando su seguridad, tolerabilidad y aceptabilidad. Inicialmente, ello puede evaluarse

FIGURA 2. Etapas avanzadas de la elaboración de vacunas antimaláricas



mediante la inoculación experimental (fase IIa), que solo se efectúa en centros especiales legalmente autorizados. El requisito previo a la iniciación de los ensayos de la fase II es la comprobación (en los ensayos de fase I) de que la vacuna es adecuadamente segura, tolerable y aceptable. Los estudios de fase IIb abarcan grupos de población expuestos a la inoculación natural y no se llevan a cabo necesariamente en una institución. En consecuencia, puede existir cierta superposición entre las fases IIb y III (véase más adelante), ya que los ensayos de fase IIb tendrán que considerar la posibilidad de la infección natural en distintas condiciones epidemiológicas.

Fase III. En estos ensayos se hace hincapié en la eficacia de la vacuna; se efectúa también la monitorización de la seguridad, tolerabilidad y aceptabilidad, aunque con menos detalle que en las fases I y II. Las pruebas de la fase III son generalmente ensayos abiertos efectuados en una población elegida, expuesta a la inoculación natural, a la que está destinada la vacuna; estos ensayos también pueden brindar la oportunidad de estudiar los efectos de la vacuna en la comunidad. Inicialmente puede tratarse de estudios piloto en pequeña escala, antes de alcanzar la dimensión de los ensayos de campo. También se deben realizar dichos ensayos en zonas bajo diversas condiciones de endemividad y transmisión de la malaria.

Fase IV. Esta fase, posterior al registro de la vacuna, está en gran parte dedicada a la monitorización de la seguridad, eficacia y repercusiones en la situación epidemiológica, con vistas a lograr que las estrategias de vacunación sean óptimas.

Consideraciones generales. La realización de ensayos clínicos y de campo de las vacunas antimaláricas difiere en ciertos aspectos de los estudios de otras vacunas. En este contexto, puede ser útil tener en cuenta la experiencia reciente de los estudios de vacunas antimaláricas referida en el Anexo V del informe completo ya mencionado.

Aspectos éticos. Es muy importante que se efectúen todas las pruebas de acuerdo con los principios establecidos por la Asamblea Médica Mundial de 1975 en relación con la ética y la experimentación humana. Esto es fundamental en los ensayos de vacunas; durante los ensayos de fases I a III es preciso obtener el consentimiento de los voluntarios. Esto significa proporcionarles información en forma verbal o escrita, expresada de acuerdo con el lenguaje que mejor puedan entender. En los ensayos con lactantes y niños, es preciso obtener el consentimiento de los parientes, de acuerdo con la legislación nacional.

El protocolo de cada ensayo debe ser aprobado o preparado por el investigador principal, firmado por él y aprobado por un comité de ética local o nacional. La seguridad de los voluntarios durante los ensayos debe ser la consideración primordial del comité de ética para aprobar el estudio y del investigador principal para llevarlo a cabo. Sin embargo, también deben considerarse los aspectos científicos y las probabilidades de adquirir conocimientos útiles, al contemplar su aprobación.

Monitorización de los ensayos. Es preciso designar a un monitor de ensayos clínicos para cada estudio con el fin de que colabore con el investigador principal en la realización del proyecto de acuerdo con el protocolo establecido. Cuando la misma persona supervisa varios ensayos o instituciones donde estos se

llevan a cabo, puede contribuir a la coordinación de los estudios y a la comparación de los datos obtenidos de ellos. El monitor debe estar siempre disponible, para que el investigador principal pueda ponerse en contacto con él y analizar cualquier problema o aprobar pequeñas modificaciones del protocolo a medida que se requieran. El monitor también cumpliría una función esencial en la notificación de las reacciones adversas importantes, en caso de que se produjeran, y tendría autoridad para suspender o finalizar un ensayo cuando fuera necesario.

Es conveniente considerar la designación de un mediador independiente en cada ensayo para que vele por los intereses y el bienestar de los pacientes. Esa persona debe ser un clínico con experiencia, ajeno al estudio o a su organización.

Datos de base. Con el fin de evaluar las vacunas, será esencial obtener datos basales hematológicos, bioquímicos, parasitológicos e inmunológicos de todos los sujetos participantes y de las poblaciones pertinentes. Es preciso disponer de esta información antes de comenzar las pruebas. Se debe establecer un banco de suero que recopile y almacene las muestras para facilitar las comparaciones retrospectivas.

Puesto que la malaria y otras enfermedades febriles se asocian con cefalea, náusea, vómito, mareos, etc., a veces puede ser difícil distinguir entre los efectos secundarios relacionados con la enfermedad y los inducidos por la vacuna. También se pueden observar di-

ferencias entre los estudios efectuados en hospitales o instituciones y ensayos de campo con voluntarios no hospitalizados. Por consiguiente, se debe obtener información de base sobre los síntomas y registrarla en cuestionarios apropiados.

Planeamiento, realización y evaluación. El planeamiento de los ensayos de vacunas debe basarse en la documentación técnica prescrita para ese fin. El protocolo de estudio debe especificar claramente los objetivos, el grupo elegido (con los criterios de inclusión y exclusión), las investigaciones que se efectuarán y su secuencia cronológica. Debe contener también una descripción de las instalaciones disponibles, el personal y sus responsabilidades, y las disposiciones para el registro y evaluación de los datos. Una vez aprobado, el protocolo será firmado por el investigador principal, la autoridad administrativa de la institución y el monitor independiente. Entonces se presenta el protocolo firmado a la comisión de ética para obtener su aprobación. Las investigaciones se deben llevar a cabo siguiendo estrictamente dicho protocolo, a menos que se introduzcan modificaciones de común acuerdo con el monitor. Antes del ensayo se estandarizarán los métodos de laboratorio y, al inicio y durante el mismo a intervalos apropiados, se calibrará el utillaje para garantizar un funcionamiento adecuado en todas las pruebas. Es preciso llenar correctamente y a tiempo los formularios de registro de datos. Una vez completados el estudio y el registro de datos, el investigador firmará los formularios de datos de los voluntarios y,

cuando no se efectúe la evaluación en el centro del ensayo, los enviará al lugar pertinente para esa labor. Los datos de ensayos obtenidos en cada centro deben mantenerse confidenciales.

Aunque se pueden efectuar los ensayos de fase I con grupos relativamente pequeños, la cantidad de datos acumulados en fases siguientes hará necesario su almacenamiento y análisis por computadora. Se facilitará la informatización usando hojas de registro precodificadas, diseñadas en base al protocolo de estudio.

Como los ensayos con vacunas antimaláricas pueden requerir mucho tiempo (para detectar efectos secundarios tardíos y estimar la duración de la inmunidad funcional), puede resultar conveniente efectuar una evaluación por etapas para evitar una demora en el análisis de las primeras observaciones (por ejemplo, las reacciones a la vacuna). Esto no implicará quebrantar el código en los ensayos doble ciegos si se usan transcripciones (fotocopias) para el procesamiento de datos y no se efectúa su análisis en el centro de ensayo.

Aparición de parasitemia durante los ensayos. Durante los ensayos en zonas endémicas, se pueden producir episodios de parasitemia en personas vacunadas, originados en la infección por especies heterólogas de parásitos. Solo la demostración de parasitemia debida a parásitos homólogos en personas no infectadas anteriormente es indicativa del fracaso de la vacuna. También hay que considerar que el fracaso obedezca a una diversidad antigénica. En consecuencia, siempre que sea posible, se deben tomar muestras de sangre durante cada episodio de parasitemia y determinar las características antigénicas de los parásitos. Esto se aplica también al caso de la vacuna preparada con formas eritrocitarias asexuadas cuando induce inmunidad completa en estos es-

tadios, o al de la parasitemia intensa cuando la vacuna tiene únicamente un efecto supresor.

El tipo de vacuna y las fases. Es evidente que las vacunas preparadas con esporozoitos y formas eritrocitarias asexuadas tendrán que pasar por las fases I, II, III y IV; no obstante, cuando se trata de la obtención de vacunas que bloquean la transmisión, cuya eficacia puede ser estimada solo en los ensayos de fase IV, no son pertinentes los estudios de fases II y III. Por consiguiente, las vacunas que bloquean la transmisión deben ser sometidas a estudios exhaustivos de fase I para obtener datos adecuados acerca de la tolerabilidad, seguridad, inmunogenicidad e inmunidad funcional en todos los grupos destinatarios, con objeto de registrarlas. Estas vacunas pasarán directamente a los ensayos de fase IV, en los que se analizarán sus efectos.

Ensayos de fase I de vacunas antimaláricas

Los ensayos de fase I tienen la finalidad de evaluar la seguridad e inmunogenicidad de las presuntas vacunas. En el caso de la malaria, se está considerando una amplia gama de posibles métodos que engloban el uso de diferentes especies y formas parasitarias, así como distintos tipos de vacuna. Los comentarios siguientes se circunscriben a *P. falciparum* y vacunas preparadas con microorganismos muertos; las vacunas contra esporozoitos, formas eritrocitarias asexuadas y las vacunas que bloquean la transmisión o las vinculadas con los ga-

metos son ejemplos actualmente en consideración. Obviamente, en la elaboración futura de vacunas se incluirán otras especies del parásito.

Si bien los ensayos de fase I no están diseñados para determinar la eficacia de la presunta vacuna, esta evaluación permitirá estimar las probables restricciones y ventajas de su empleo. Los factores que se deben evaluar son la aceptabilidad de la vacuna en las poblaciones a las que está destinada, la inmunogenicidad (el perfil y la cinética de la respuesta inmunitaria) y la obtención de información para iniciar los ensayos de fase II.

Realización de los ensayos de fase I. Es preciso tener en cuenta los siguientes aspectos:

Objetivos. El objetivo principal del estudio inicial de fase I en el hombre de una presunta vacuna antimalárica que contenga un solo antígeno malárico o una combinación de ellos, debe ser evaluar tanto objetiva como subjetivamente los efectos locales y sistémicos posteriores a su administración. Uno de los objetivos secundarios es establecer las respuestas inmunitarias inducidas por la vacuna. Se pueden comparar las distintas formulaciones, dosis, intervalos y vías de administración. Otro objetivo de la fase I puede ser comparar la seguridad e inmunogenicidad en personas con y sin exposición previa a la malaria.

Para efectos prácticos, los ensayos de fase I se denominan Ia cuando incluyen a sujetos no inmunes, a quienes no está destinada la vacuna, que habitan zonas no maláricas, y Ib si los participantes pertenecen a poblaciones destinatarias de la vacuna en zonas maláricas.

Relación con otras fases. Será preciso planificar y preparar los ensayos de fase I durante la fase preclínica 0, e iniciarlos una vez cumplida la solicitud de exen-

ción de la vacuna nueva sujeta a investigación (VNI) (véase más adelante) y completada la documentación de la vacuna nueva (un documento que sintetiza los resultados preclínicos importantes). Estos ensayos tendrán que continuar, principalmente en las zonas endémicas, hasta el final de la fase II. El diagrama de operaciones en el informe completo indica los pasos previstos.

Pruebas inmunológicas. Se debe contar, al menos, con un laboratorio a cargo de las pruebas inmunológicas específicas y de establecer las relaciones entre la comprobación *in vitro* de la inmunidad protectora o funcional, la reactividad cruzada con otras especies o formas de desarrollo de los parásitos y las respuestas inmunitarias o inmunopatológicas a los componentes de la vacuna. Será necesario investigar localmente algunos aspectos de la respuesta inmunitaria celular; el suero se puede almacenar y transportar. Para cada prueba se conservarán muestras alícuotas de suero congelado. Como el suero obtenido antes de la vacunación tendrá que ser comparado en ensayos posteriores, es preciso almacenar una cantidad adecuada de muestras alícuotas antes de la vacunación de los voluntarios. Tal vez se precisen medidas similares en relación con el almacenamiento, transporte y procesamiento de leucocitos.

Protocolos de la fase I. Se diseñarán protocolos independientes para cada estudio específico, que deben proporcionar información concisa sobre la vacuna que se empleará, los objetivos del estudio, detalles de la población incluida en los ensayos y directrices para todas las actividades de investigación. El protocolo, firmado por el investigador principal y el monitor de los ensayos, debe ser aprobado por la comisión de ética y seguir las disposiciones nacionales concernientes a ese tipo de ensayos.

Vínculos con los organismos oficiales. En general, los ensayos de vacunas experimentales en el hombre requieren la obtención de una exención o autorización equivalente para vacunas o fármacos nuevos sujetos a investigación (VNI/FNI), otorgada por las autoridades oficiales nacionales. Esto significa que habrá que presentar una solicitud para las VNI al organismo pertinente antes de iniciar los estudios de fase I. Las deliberaciones preliminares con los organismos oficiales pueden facilitar los trámites de solicitud. Esta debe contener información minuciosa sobre la elaboración de la vacuna, composición, estudios preclínicos, protocolos de los ensayos clínicos propuestos que incluyan una descripción de los sujetos que recibirán la vacuna y de los parámetros que se evaluarán, descripción de las instalaciones, antecedentes profesionales de los investigadores clínicos, formularios de consentimiento e informes detallados de los aspectos institucionales y éticos.

Consideraciones especiales en relación con el tipo de vacuna. La evaluación de la inmunogenicidad de las vacunas mediante pruebas *in vitro* que reflejen la inmunidad funcional varía según los tres tipos de vacunas. Se requieren pruebas específicas como las descritas en el Anexo III, sección 1.2, del informe completo. Para obtener resultados satisfactorios en los estudios de fase I, es fundamental disponer de un laboratorio competente donde se puedan efectuar análisis especializados.

Lugares para ensayos de fase I. Estos lugares pueden corresponder a zonas endémicas o no endémicas.

Zonas no endémicas. La primera experiencia de la fase I con vacunas antimaláricas debe efectuarse en voluntarios sanos que no hayan estado expuestos a la enfermedad, lo cual es más factible en zonas no endémicas. En estudios posteriores en zonas endémicas se podrán considerar las influencias genéticas y étnicas. Los lugares más adecuados son aquellos donde ha habido experiencia en la elaboración de vacunas, farmacología clínica y ensayos de fase I con vacunas o fármacos. El factor más importante tal vez sea disponer de voluntarios dispuestos a cooperar y a participar plenamente en el estudio. Se precisarán los servicios de clínicos calificados, personal de laboratorio clínico, inmunólogos, especialistas en malaria y en la elaboración de vacunas, estadísticos y, en casos especiales, entomólogos. Los resultados de los ensayos de fase I con sujetos sanos no inmunes servirán de base para los ensayos adicionales de fase Ib en zonas endémicas, con sujetos más íntimamente relacionados con la población diana, destinada final de las vacunas.

Zonas endémicas. Los ensayos de fase I con vacunas antimaláricas en los países endémicos incluirán una variedad de poblaciones y grupos. Puesto que se efectúan *sin* inoculación, la intensidad de la transmisión local de la malaria durante el período de observación debe ser mínima. Al seleccionar el lugar para un centro de ensayo de vacunas, es preciso tener en

cuenta la motivación de la población de estudio en cuanto a aceptación y demanda de la vacuna. Hay que considerar algunos aspectos específicos al elegir el lugar para los ensayos de fase I:

□ El centro de ensayo debe estar situado en una zona, país o población que tenga interés en el uso eventual del tipo específico de vacuna en la lucha antimalárica; por ejemplo, áreas o países con programas activos de control de la malaria y posiblemente afectados por importantes problemas técnicos, tales como resistencia de los parásitos a los fármacos, de los vectores a los insecticidas, exofilia de los vectores o desplazamientos de la población. Asimismo, hay que considerar las zonas o países con interés manifiesto y considerable en la adopción de medidas futuras para el control de la malaria.

□ No sería sensato emplazar los ensayos de fase I en áreas o países donde la lucha antimalárica se vea impedida por circunstancias políticas o administrativas, problemas de infraestructura o de logística, ni donde la situación política sea inestable, ya que es presumible que esas mismas restricciones afectarán la realización de los ensayos.

□ El establecimiento de un centro de ensayos de vacunas es una tarea compleja que exige la creación de una infraestructura viable y eficiente. No se debe emprender esa tarea cuando existen dudas *a priori* sobre la viabilidad de la creación y mantenimiento de esta infraestructura.

Instalaciones para los ensayos de fase I. Estos ensayos requieren instalaciones bien equipadas para las investigaciones clínicas y de laboratorio, y la posibilidad de efectuar a largo plazo el seguimiento de los sujetos de estudio. El término "instalaciones" se aplica en sentido amplio e incluye recursos humanos

capacitados y con experiencia, además de las instalaciones físicas y un buen sistema de comunicación.

El personal del centro de ensayos debe tener experiencia en los estudios clínicos y de laboratorio que se llevarán a cabo. El personal administrativo y técnico también debe ser calificado y las estructuras de apoyo, apropiadas. Además, es posible que se requieran los servicios de un trabajador social.

Las instalaciones físicas incluyen locales y equipo adecuados para los estudios clínicos y de laboratorio, una fuente estable y confiable de energía eléctrica, buen abastecimiento de agua y medios de transporte, e instalaciones apropiadas para el seguimiento de los sujetos fuera de la institución.

Los servicios logísticos deben ser eficientes, en particular las comunicaciones por correo, teléfono, telégrafo y télex; facilidades de aduana para introducir suministros; transporte de registros y de muestras biológicas para el control de calidad en el laboratorio; acceso del monitor de ensayos al lugar, a las instalaciones y registros, y seguimiento de los sujetos de los ensayos después de abandonar la institución.

Hay que considerar que la creación de centros de ensayo de vacunas en países donde es endémica la malaria representa una labor sustancial, que a menudo exigirá la formación de recursos humanos y la construcción de instalaciones físicas.

Conclusiones sobre los ensayos de fase I. La obtención de una vacuna eficaz contra la malaria exige la aplicación de enfoques y métodos nuevos, y presenta un grado de complejidad que no es usual en la prevención de las enfermedades infecciosas.

El éxito de las actividades de la fase I consiste en la validación de una

presunta vacuna antimalárica (que incluya uno o más antígenos en una fórmula adecuada), que sea bien tolerada tanto en forma local como sistémica por la población humana a la que está destinada. Esto permitirá iniciar los ensayos de fase II. No obstante, los estudios (ampliados) de fase I seguirán extendiéndose a otros grupos de población.

Asimismo los estudios de fase I proporcionan información sobre el tipo de respuesta inmunitaria, las diferentes dosis e intervalos de administración, con el fin de determinar los esquemas de vacunación óptimos y la cinética más apropiada de inmunidad inducida. También se espera obtener datos acerca de la tolerancia a la vacuna, la inocuidad e inmunogenicidad en relación con la edad y los antecedentes previos o actuales de malaria de los voluntarios participantes.

Ensayos de fase II de vacunas antimaláricas

Como se señaló anteriormente, los objetivos de la fase II son comprobar la respuesta inmunitaria protectora inducida por la vacuna y continuar evaluando su seguridad y aceptabilidad. En consecuencia, estas pruebas constituyen una etapa intermedia entre la fase I y la iniciación de los ensayos de campo. Naturalmente, se espera que los centros de ensayos de fase II mantengan una estrecha colaboración con las instituciones implicadas en los estudios de la fase I (cuando no son las mismas) y que desempeñen una importante función en el planeamiento y la realización de las actividades de la fase III.

La fase II es una etapa importante para estimar la inocuidad y eficacia de la vacuna en personas con distintos antecedentes de exposición a la malaria. En esta población se estudia la inmunidad protectora o funcional según la edad y se determinan las dosis, pautas y condiciones para la vacunación.

Objetivos. Estos consisten en determinar la eficacia de las vacunas preparadas con esporozoitos y formas hemáticas asexuadas, aunque ya estimada *in vitro* en la fase I, según la capacidad de los sujetos participantes para resistir una infección con la especie homóloga del parásito. Se puede efectuar por medio de exposición experimental (solo en adultos y excluyendo a las mujeres embarazadas) como en las pruebas de la fase IIa, o por exposición natural bajo las mismas condiciones de campo que en la fase IIb.

En la fase IIa, la vacunación (y una o dos dosis de refuerzo en el momento óptimo según la experiencia en la fase I) es seguida de una exposición experimental que produciría una infección en los sujetos testigo. La exposición se efectuaría cuando se prevea que los títulos de anticuerpos y/o la inmunidad funcional están a su nivel máximo. La exposición puede actuar potencialmente como una dosis de refuerzo y será preciso monitorizar los parámetros inmunológicos atentamente como en la fase I. Estos ensayos también pueden ser útiles para estimar la duración de la inmunidad funcional posterior a la inmunización primaria y redefinir la secuencia cronológica de la vacunación de refuerzo.

Estos estudios solo se pueden llevar a cabo en centros especiales donde se efectúen de ordinario inoculaciones de ese tipo y cuenten, por supuesto, con autorización legal. En general, estos estudios duran más que los de fase I. Se puede considerar la readmisión de los voluntarios a los centros después de perío-

dos prolongados de residencia externa, con el fin de repetir la exposición experimental o la vacunación.

Los estudios de fase IIa con infección por exposición también se pueden efectuar en varones adultos voluntarios de zonas maláricas, por ejemplo cuando la frecuencia de la exposición natural es inadecuada para obtener resultados inequívocos en la fase IIb dentro de un lapso aceptable.

En la fase IIb, los estudios se amplían para incluir grupos de población expuestos a la inoculación natural; por consiguiente, permite seguir diversas líneas de investigación como la observación de varones adultos sanos de zonas no maláricas y sin antecedentes de la enfermedad. Después de la inmunización inicial, confirmación de la inocuidad de la vacuna y evaluación en el laboratorio de la inmunidad funcional inducida, se expone a los voluntarios a la inoculación natural. Si se ha inducido la protección, es posible determinar la duración de la misma o de la inmunidad funcional tanto en presencia como en ausencia de dicha exposición. Las observaciones siguientes de las dosis de refuerzo se efectúan de la misma forma. También se ejecutan estudios paralelos o consecutivos entre adultos de poblaciones diana, separados por grupos según sus antecedentes: sin infección malárica actual o pasada, enfermedad previa pero sin infección actual, infección oligosintomática actual, vacunados después del tratamiento y vacunados sin tratamiento.

La selección de sujetos para estos ensayos refleja una variedad de antecedentes y situaciones con respecto a la enfermedad, que se han de considerar cuidadosamente para obtener resultados adecuados.

Después de verificar la seguridad y estimar la inmunidad funcional posvacunación en la propia institución, se expone a los voluntarios a un medio natural donde exista transmisión de la malaria (generalmente su propio medio). El seguimiento tras el alta permite evaluar la inocuidad a largo plazo de la vacuna y la duración de la inmunidad funcional (en estudios doble ciegos con placebo) en condiciones de exposición natural.

Se pueden formar grupos especiales de personas no inmunizadas que, después de la vacunación, se exponen a la inoculación natural, tales como personal de las fuerzas armadas o policial, o trabajadores de campamentos de construcción. Estas variantes de ensayo con grupos no inmunes pueden llevarse a cabo cuando se dispone de instalaciones adecuadas.

Cuando sea conveniente, también se efectuarán estudios de la fase II en adolescentes y niños mayores de cinco años. Será preciso efectuar previamente estudios específicos de fase I para definir la tolerabilidad y la respuesta inmunitaria en niños pequeños y mujeres embarazadas. Los resultados de los estudios de la eficacia en otros grupos determinarán si es o no conveniente llevar a cabo otros tipos de ensayos de fase II en los grupos antes mencionados.

Planeamiento, realización y evaluación. El planeamiento de los ensayos de fase II sigue en esencia las pautas ya establecidas para los de fase I, pero incluye además medidas específicas para hacer frente a las infecciones provocadas

por la inoculación, y para el diagnóstico y tratamiento rápidos de infecciones malarías sintomáticas en los voluntarios. La documentación actualizada sobre la VNI es un elemento básico para elaborar el protocolo de ensayo. Es probable que el grado y las fluctuaciones estacionales de la endemidad de la malaria en la zona influyan en el planeamiento y diseño de los ensayos de fase IIb. Se contempla la posibilidad de llevar a cabo ensayos simultáneos en distintos países y diferentes situaciones endémicas.

Evaluación de parámetros. Los parámetros clínicos y de laboratorio pertinentes en los ensayos de fase II son prácticamente los mismos que en la fase I, pero deben ser complementados con la observación parasitológica intensiva después de la exposición experimental y la natural.

Antes de la vacunación, es preciso determinar el perfil inmunológico de todos los voluntarios en relación con la malaria y monitorizar regularmente ese perfil después de la vacunación y durante la exposición experimental y la natural. Además, es necesario realizar observaciones longitudinales para detectar efectos adversos tardíos. Si bien en los ensayos de inoculación artificial el fenómeno infectivo es de tipo conocido (en la persona no inmune), puede resultar muy difícil establecer la intensidad de la inoculación natural; no obstante, un ensayo doble ciego adecuado (la vacuna en comparación con un placebo) puede proporcionar información valiosa, siempre que el grado de inmunidad protectora adquirida en forma natural no interfiera en la evaluación del tipo y efecto específicos de la vacuna.

Lugar e instalaciones para el ensayo. Al seleccionar para ensayos de fase IIb un lugar donde es posible que ocurra la inoculación natural, es impor-

tante tener una idea precisa del riesgo de infección que corren los voluntarios en su lugar de residencia y relacionarlo con el tamaño del grupo, estación del año y duración del seguimiento, con el fin de determinar si se pueden esperar resultados útiles de los estudios efectuados en ese sitio.

Los centros de ensayo previstos deben ser capaces de organizar y llevar a cabo investigaciones entomológicas sobre las especies vectoras locales y de registrar su comportamiento en relación con la transmisión de la malaria. Es especialmente importante obtener información sobre la frecuencia con que esos vectores transmiten las especies de plasmodios durante las distintas estaciones. En consecuencia, los centros deben considerar el mejor modo de aplicar, bajo condiciones locales, las nuevas técnicas para detectar, identificar y cuantificar la cantidad de esporozoitos presentes en los mosquitos. Además, conviene realizar estudios de campo en las zonas que interesan como sitios de ensayo, con objeto de determinar la dinámica y la prevalencia de la parasitemia y los índices seroepidemiológicos.

Se considera que los ensayos de fase II también deben incluir la normalización de las condiciones de almacenamiento de muestras biológicas y vacunas y de los métodos de transporte. La estimación de la vigencia de las vacunas almacenadas continuará en la fase III.

Además de las instalaciones necesarias para la fase I, es preciso que los centros de ensayos de fase IIa que incluyen estudios de inoculación proporcionen servicios continuos de diagnóstico y atención médica para la detección y el control de la malaria. Asimismo, si estos

centros están ubicados en zonas maláricas, deben contar con instalaciones adecuadas para el tratamiento de la enfermedad. Todos los centros para ensayos de fase II tienen que estar equipados para el tratamiento de urgencia de la malaria y sus complicaciones. La gama de medicamentos disponibles debe coincidir con la situación local de sensibilidad a los fármacos con el fin de asegurar la curación radical en todos los casos de irrupción (en los estudios de exposición se deben emplear aislados o clones de *P. falciparum* de gran sensibilidad a uno o más de los fármacos antimaláricos habituales asequibles en el lugar).

También es preciso que los centros de ensayos de fase II puedan realizar adecuadamente el registro de datos y el seguimiento de los voluntarios una vez que abandonen la institución. Esta es una tarea fundamental que exige considerable respaldo administrativo y clínico.

Ensayos de fase III de vacunas antimaláricas

Estos ensayos se efectúan en zonas maláricas, en el entorno natural de las comunidades expuestas a la enfermedad. Constituyen la extensión lógica de los ensayos de fase II cuando en estos se han comprobado la eficacia, inocuidad, tolerabilidad y aceptabilidad de la vacuna. Los ensayos de fase III aún se centran en el individuo, en contraste con los de fase IV, cuyos objetivos son evaluar las repercusiones epidemiológicas de las vacunas, determinar las estrategias para su empleo contra la enfermedad y monitorizar su seguridad y aceptabilidad.

Evidentemente, los ensayos de fase III solo son aplicables a vacunas preparadas con esporozoitos y formas hemáticas asexuadas, y no a las vacunas que bloquean la transmisión. Estas últimas no confieren protección individual con-

tra la infección, el elemento más importante evaluado en los ensayos de fase III.

Objetivos. El objetivo primordial de los ensayos de fase III es estudiar la eficacia, inmunogenicidad, seguridad, tolerabilidad y aceptabilidad de una vacuna antimalárica (con uno o varios antígenos) en grupos de población bajo las condiciones maláricas de su medio habitual. Estos estudios abarcan grupos de población más amplios que los de la fase II y, en general, se basan en un protocolo más simple, ya que la experiencia adquirida durante las fases I y II sirve para identificar los parámetros fundamentales. La experiencia obtenida en la fase III, junto con los resultados de las fases I y II, proporciona la información necesaria para solicitar el registro de la nueva vacuna ante la autoridad oficial (SFN/SVN = solicitud de registro de un fármaco/vacuna nuevos). Si bien inicialmente el registro de una nueva vacuna puede estar restringido en cuanto a las personas en quienes se puede emplear, sería preferible que los resultados de los estudios de la fase III permitieran obtener un registro que autorizara la cobertura de todos los grupos principales que, en última instancia, necesitarán la protección de la vacuna.

Los ensayos de fase III también deben establecer las pautas de dosificación de la vacuna según los grupos de edad y los antecedentes de malaria. Dado que estos ensayos representan un puente de enlace entre los estudios clínicos (fases I y II) y las investigaciones de campo (fase IV), están sujetos a grandes variaciones en cuanto a los objetivos específicos y grupos de población involucrados, y también en lo que se refiere a la comparación con otros métodos de protección individual, el grado y el momento de la exposición natural a la infección y la intensidad del seguimiento posvacunación. Los ensayos de fase III

deben proporcionar toda la información necesaria para planear los futuros ensayos de campo de cobertura total en la fase IV.

Planeamiento. El diseño de los protocolos deberá seguir el mismo patrón general ya mencionado (protocolos de la fase I), puesto que los principios de los ensayos de fase I son los mismos que para la fase II con respecto a información sobre el producto, manipulación y almacenamiento de la vacuna, administración, exámenes previos a la vacunación, seguimiento, funcionamiento del laboratorio, registro de datos, consideraciones éticas, monitorización de los estudios y vínculos con los organismos sanitarios oficiales. No obstante, deben mencionarse varios aspectos específicos de la fase III.

Cronología. Los estudios de fase III se llevan a cabo una vez que los de fase II hayan demostrado la eficacia y seguridad de la vacuna. Como en la fase II, los ensayos de fase III a menudo siguen una secuencia de etapas; por ejemplo, habiéndose comprobado la seguridad y eficacia de la vacuna en varones adultos y adolescentes mediante ensayos clínicos, se pueden realizar en estos grupos los ensayos de fase III, mientras los estudios en otros grupos de edad tal vez se encuentren en fase II (o, incluso, en la I). Al establecer la cronología de la vacunación, puede ser preciso tener en cuenta la periodicidad de la transmisión (exposición natural).

Composición de la vacuna. La composición de las vacunas usadas en los ensayos de fase III ya debe haber sido

puesta a prueba en las fases I y II. No se admite en la fase III la introducción de vacunas modificadas que no hayan pasado por las fases I y II. La información sobre el producto contenida en el protocolo de la fase III debe proporcionar un resumen del comportamiento de la fórmula en la fase II. En la fase III se administra el preparado farmacéutico final.

Diseño del estudio. El diseño de los ensayos de fase III de vacunas antimaláricas es bastante flexible y dependerá de los objetivos, sujetos incluidos, tipo de vacuna usada y alcance de las observaciones factibles en el lugar del proyecto.

Al igual que en la fase II, los ensayos de fase III normalmente se inician con varones adultos y de forma gradual se pasa a los grupos de menor edad y mujeres no embarazadas en edad fértil.

El ensayo doble ciego que compara placebo y vacuna es el procedimiento usual para aquellos grupos y condiciones en los que este diseño no constituye un riesgo indebido. Por ejemplo, un ensayo de este tipo en varones adultos y jóvenes en zonas de transmisión intensa y malaria estable ofrece escaso riesgo. En grupos específicos muy vulnerables, puede no ser aceptable el riesgo del empleo de placebo (por ejemplo, en niños menores de tres años y mujeres embarazadas; ambos grupos podrían incluirse después de las pruebas de fase I ampliada). Usando quimioprofilaxis se puede lograr que estos ensayos resulten relativamente seguros aunque se conserve el diseño doble ciego.

Algunos ensayos de fase III permiten comparar la vacuna ensayada

con otras formas de protección individual, o diferentes preparaciones o tipos de vacunas entre sí. Otros ensayos de fase III, particularmente los más adelantados, pueden implicar estudios importantes de viabilidad y aceptabilidad dirigidos a obtener la cobertura adecuada de comunidades enteras.

Poblaciones y zonas de ensayo. En general, los ensayos de fase III se realizan en zonas con poblaciones en las que se espera finalmente utilizar la vacuna ensayada, de manera regular. Cabe subrayar que en los ensayos de fase III se usa la composición farmacéutica definitiva, es decir, la vacuna en su última etapa previa al registro.

Puesto que los ensayos de esta fase deben validar la vacuna y proporcionar todos los elementos necesarios para que pueda aplicarse con seguridad subsecuentemente, es preciso que incluyan todos los grupos de población principales, especialmente aquellos reconocidos como objeto específico de protección (por ejemplo, niños menores de cinco años en zonas holoendémicas o hiperendémicas donde la transmisión de la malaria es intensa).

Aparte de edad, sexo y embarazo, hay que tener en cuenta la experiencia pasada o presente de los sujetos con la enfermedad. Cuando se efectúan los ensayos de fase III, los de fase II habrán proporcionado información sobre la respuesta a la vacuna en relación con infecciones actuales o anteriores y sobre la necesidad de administrar un tratamiento antimalárico antes de vacunar o simultáneamente. Los protocolos de los ensayos de fase III deben contemplar estos aspectos.

La ubicación de los ensayos de fase III en el medio natural de la malaria es particularmente adecuada para estudiar la inmunidad inducida por la vacuna, su dinámica y la correlación entre

esa inmunidad y la inoculación natural. Por consiguiente, es de esperar que los estudios de esta fase también permitan establecer la cronología óptima de la vacunación con respecto a la situación epidemiológica local.

Si bien los ensayos de fase III de vacunas antimaláricas deben centrarse en los principales grupos étnicos de las zonas maláricas y en distintas condiciones epidemiológicas, también es posible contemplar la inclusión en estos ensayos de personas no inmunes que se trasladan a zonas maláricas (por ejemplo, obreros de construcción, etc.).

Exámenes previos a los ensayos y seguimiento. Todos los sujetos de estudio en ensayos de fase III deben ser examinados antes del ensayo y a determinados intervalos durante y después de la vacunación. Los parámetros utilizados ya se habrán establecido al concluir los ensayos de fase II. En la fase III se suelen monitorizar unos cuantos parámetros esenciales a fin de vigilar la eficacia y seguridad de la vacuna y, en cierta medida, comprobar probables efectos indirectos beneficiosos de la vacunación (por ejemplo, aumento de la concentración de hemoglobina).

Ciertos grupos que participan en los ensayos de fase III pueden ser objeto de exámenes más exhaustivos, de acuerdo con los objetivos específicos del estudio y el grupo en cuestión.

La duración del seguimiento en la fase III depende de los objetivos, del grupo de estudio y de las condiciones epidemiológicas locales. Cuando se trata de personas previamente no inmunes que visitan una zona malárica solo por unas semanas o meses, puede ser suficiente comprobar la inocuidad, tolerabilidad y eficacia de la vacuna durante el tiempo de exposición y por un período posterior relativamente breve.

En los grupos expuestos a la infección natural, que residen en zonas donde la transmisión de la malaria es estacional, puede ser preciso evaluar la eficacia de la vacuna durante el período de transmisión, observar los perfiles inmunitarios en los intervalos de inactividad y continuar la monitorización de la eficacia en períodos de transmisión subsecuentes sin aplicar dosis de refuerzo.

En los grupos expuestos a la infección natural, que residen en zonas de transmisión ininterrumpida, el estudio longitudinal consolidará la información sobre la duración de la protección inducida por la vacuna (contra la infección o la morbilidad) y su relación con la intensidad y frecuencia de exposición al parásito.

Además de los exámenes necesarios para evaluar la seguridad y eficacia de la vacuna, habrá que adoptar medidas para detectar y tratar rápidamente los casos de malaria en la zona de los ensayos con el fin de evitar la morbilidad grave y la mortalidad. Esa vigilancia también permitirá detectar casos eventuales de fracaso de la vacuna y, por consiguiente, será un instrumento esencial para la monitorización de la respuesta a la vacuna y su eficacia.

Monitorización de las pruebas. Como en fases anteriores, los ensayos de fase III también exigen la presencia de un monitor independiente.

Efectos adversos. Los ensayos de fase III abarcan una población mayor que la de las fases I y II en conjunto. Por consi-

guiente, en esta fase es más probable detectar efectos adversos de frecuencia moderada o escasa y las observaciones deben orientarse a esa detección. Por ejemplo, los análisis de orina efectuados de manera amplia permiten detectar manifestaciones incipientes de inmunopatología renal.

Lugares e instalaciones. Los ensayos de fase III se han de realizar en zonas endémicas (con la posible excepción de algunos grupos de personas previamente no inmunes que pueden observarse antes y después de la exposición en una zona no malárica).

Los principales grupos diana en los ensayos de fase III son las personas del lugar expuestas a contraer la enfermedad, preferiblemente en zonas donde se piensa implantar la vacunación y donde los habitantes están fuertemente motivados para aceptarla. Será necesario llevar a cabo ensayos de fase III en zonas prototipo de las principales condiciones epidemiológicas que requieran el uso de la vacuna. La adecuada documentación epidemiológica de la zona es un requisito indispensable.

La ubicación de un ensayo de fase III en una zona malárica (por lo general rural o periurbana) no significa que se pueda controlar mediante visitas ocasionales o a través de representantes. Aunque los parámetros que se observarán en cada individuo son menos que en la fase II, el gran número de sujetos involucrados producirá una cantidad de datos similar a la de fase II. La población de estudio estará expuesta al riesgo de contraer la malaria; por lo tanto, es obligatorio tomar medidas específicas para su diagnóstico y tratamiento.

En consecuencia, las instalaciones médicas necesarias deben estar en la zona del ensayo o muy cerca de ella, contar con los servicios de un investigador principal residente y estar disponi-

bles las 24 horas del día. Los servicios de laboratorio son menos complejos que los de la fase II pues implican básicamente el examen microscópico de muestras de sangre, técnicas hematológicas sencillas y análisis de orina, pero deben ser eficientes y modernos. Los servicios técnicos muy especializados exigirán una estructura de apoyo competente, incluso con trabajadores sociales cuando se precise.

Creación de instalaciones para la fase III. En la actualidad, pocas zonas o países reúnen las condiciones esenciales para establecer ensayos de fase III, es decir, disponibilidad de información epidemiológica adecuada sobre áreas de ensayo prospectivas y personal especializado. Por consiguiente, será necesario crear esas condiciones mediante la capacitación de personal y desarrollo de proyectos de investigación sobre la epidemiología de la malaria que, con el tiempo, se podrían convertir en centros para ensayos de fase III.

Ensayos de fase IV de vacunas antimaláricas

La prueba definitiva de la utilidad práctica de una vacuna reside en la evaluación de sus repercusiones en la salud de la población. En consecuencia, es preciso efectuar ensayos de fase IV antes de que una vacuna se pueda usar como elemento de rutina en salud pública. Los dos aspectos principales de estos ensayos son los efectos en la salud de la población vacunada y los efectos sobre la transmisión. Estos dos aspectos están íntimamente relacionados, pero exigen distin-

tos diseños de estudio. Además, los ensayos de fase IV deben evaluar factores económicos, sociales y de otro tipo, que pueden influir en la administración de las vacunas antimaláricas y en su aceptación por la población.

Objetivos. Los principales objetivos de la fase IV son la evaluación, en condiciones de campo, de la eficacia de una vacuna antimalárica autorizada y la monitorización de reacciones adversas en grandes grupos de población. Los propósitos básicos pueden sintetizarse de la siguiente manera:

□ en el caso de una vacuna basada en esporozoitos: prevención de la infección, y reducción de la incidencia y la mortalidad;

□ en el caso de una vacuna de formas hemáticas asexuadas: reducción de la morbilidad específica causada por la malaria, de la frecuencia y gravedad de las complicaciones, y de la mortalidad;

□ en el caso de una vacuna relacionada con gametos que bloquea la transmisión (sola o en combinación con otras vacunas): reducción de la transmisión de la malaria y, por ende, disminución de la propagación de parásitos farmacorresistentes;

□ investigación de problemas especiales que solo aparecen al estudiar grandes poblaciones. Es probable que estos se identifiquen en la fase II, pero se manifiestan principalmente en diversas etapas de la fase IV; entonces es preciso tomar medidas para detectarlos y realizar las investigaciones pertinentes.

Requisitos previos. Ya que el diseño de protocolos para los ensayos de fase IV depende de la información detallada obtenida en las fases I a III, se presume que, al planear la fase IV, se dispone de datos sobre las especies de *Plasmodium* que se quiere combatir y las formas del parásito afectadas por la vacuna; duración de la protección; grado de protección cuantitativo y cualitativo; contraindicaciones y factores especiales de riesgo; vía de administración y esquema de vacunación; aspectos logísticos de transporte y almacenamiento de la vacuna; interacción entre la infección natural y la inmunidad inducida por la vacuna; efectos de los fármacos antimaláricos en las respuestas a la vacuna; efecto de la inmunización en la eficacia de la quimioterapia; edades mínimas y óptimas para que la aplicación de la vacuna ofrezca protección; características de la vacuna que puedan interferir en el cumplimiento de la vacunación y en la aceptabilidad de las campañas de inmunización.

También se da por sentado que se dispone de suficiente información general sobre la situación epidemiológica inicial relacionada con la malaria en la zona y las comunidades seleccionadas, y que se han identificado los grupos expuestos a alto riesgo y las poblaciones específicas (niños, mujeres embarazadas, grupos migratorios, grupos ocupacionales, etc.) a las que se destinará la vacuna.

Los datos básicos iniciales también son indispensables para la evaluación y deben incluir las tasas de mortalidad por grupos de edad, sexo y estación del año. Los datos de mortalidad por causas específicas obtenidos de estudios retrospectivos son en general poco fidedignos. El valor del diagnóstico clínico de la malaria sintomática como enfermedad tendrá que determinarse a partir de información local, detección de casos y encuestas de la población.

Los procedimientos habituales de evaluación incluyen la toma de muestras de sangre por duplicado para determinar la prevalencia y la intensidad de la infección por especies y formas del parásito. Se prestará atención especial a la validación de pruebas serológicas ya establecidas y a la evaluación de otras nuevas, usadas para monitorizar anticuerpos específicos inducidos por la infección y la inmunización. En el caso de que se dispusiera de pruebas nuevas para la determinación de antígenos en condiciones de campo, sería conveniente realizar estudios especiales para su evaluación.

Durante la monitorización de eficacia en grandes grupos de población, es preciso observar los efectos de una vacuna contra *P. falciparum* sobre las infecciones por *P. malariae*, *P. vivax* y *P. ovale*, y sobre su prevalencia.

La monitorización de los datos entomológicos relacionados con la transmisión es esencial para los ensayos de fase IV. La vigilancia entomológica tiene una doble función: determinar el grado de transmisión en la zona de estudio y estimar cualquier modificación de las tendencias de transmisión, inducida por la vacuna. Al investigar vacunas que bloquean la transmisión, es conveniente determinar si prolongan la utilidad de los medicamentos antimaláricos previniendo total o parcialmente la transmisión en focos de parásitos farmacorresistentes y, por consiguiente, inhibiendo la propagación de las poblaciones resistentes.

Es importante disponer las medidas para capacitación de personal en las primeras etapas de planeamiento de

los ensayos de fases III y IV e identificar las categorías de personal que se necesitarán. Por otra parte, una vez determinadas las áreas de estudio, se precisarán más recursos humanos y habrá que definir cuantitativa y cualitativamente las necesidades de capacitación. También es importante identificar las instituciones donde se puede llevar a cabo la capacitación y comenzar a fortalecerlas en una etapa temprana, tan pronto como haya indicios de que se dispondrá de una vacuna presuntamente eficaz, es decir, por lo general en las últimas etapas de la fase 0.

Relaciones entre los ensayos de vacunas y los servicios sociales de salud. Ya que probablemente no se logre una cobertura total con la vacuna, que la reducción de la transmisión puede ser solo parcial y que continuamente se agregarán a la población local recién nacidos y personas no inmunes, es fundamental asegurar el establecimiento de servicios adecuados para el diagnóstico rápido y el tratamiento apropiado de casos de malaria.

El sistema de atención de salud de la zona debe incluir trabajadores de salud capaces de identificar los casos de la enfermedad; también deben existir instalaciones de laboratorio para confirmar el diagnóstico y una provisión adecuada de medicamentos antimaláricos eficaces, además de un sistema eficiente de remisión de pacientes a centros con instalaciones para el tratamiento de urgencia y alternativas de medicación. Esto exigirá contar con personal adiestrado, suministros y equipo.

Es parte importante de estos estudios reconocer y comunicar los efectos adversos de la vacuna y se requerirá información adecuada y personal capacitado para detectar los efectos adversos menos frecuentes, tarea que solo es posible en la fase IV.

Habrá que crear y supervisar un sistema de distribuci3n para garantizar que las poblaciones diana reciban a tiempo y a intervalos apropiados, vacunas almacenadas y transportadas segun las condiciones establecidas. A su vez, esto exige un sistema de registro minucioso, que indique las cantidades usadas de la vacuna, las cantidades requeridas, las existencias remanentes y los criterios usados en el registro. Ese sistema debe ser asequible en todos los niveles para asegurar el mejor mantenimiento posible del abastecimiento.

Será preciso establecer un sistema general de informaci3n para proporcionar los datos operativos y epidemiol3gicos necesarios.

El efecto de la vacuna sobre la transmisi3n dependerá del grado de cobertura de la poblaci3n, lo cual se relaciona con la aceptabilidad de la vacuna, la percepci3n de su valor por la comunidad, las costumbres sociales, el ingreso de personas en la comunidad y la medida en que ese ingreso es conocido por el sistema de salud.

Se debe dedicar especial atenci3n a la rápida identificaci3n de las modificaciones socioecon3micas, de tal modo que se pueda usar con eficacia la informaci3n pertinente.

Efectos de la vacuna sobre la morbilidad y la mortalidad. En zonas donde es elevada la incidencia de la malaria, el principal objetivo de una vacuna es reducir la enfermedad y la mortalidad. Existen zonas en el mundo donde no se han aplicado (con eficacia) las medidas tradicionales de lucha, a causa de la escasez de recursos econ3micos o administrativos y de personal. Por otra parte, la creciente farmacorresistencia ha disminuido notablemente el valor de la quimioprofilaxis como m3todo para combatir la enfermedad. Como consecuencia de enfermedades concomitantes, tambi3n

ha sido difícil interpretar las repercusiones individuales de la malaria en la morbilidad y la mortalidad generales.

Aun en países donde la prevalencia media de la malaria es baja, pueden existir grupos de alto riesgo como resultado de circunstancias especiales. Por ejemplo, proyectos nuevos de desarrollo econ3mico y agrícola u oportunidades de otro tipo atraen a individuos y familias no inmunes a zonas donde el riesgo de exposici3n a la malaria es muy alto. Los desplazamientos temporales o estacionales de poblaciones de trabajadores o n3madas tambi3n pueden aumentar el riesgo de contraer la enfermedad. En esas circunstancias, es probable que no sean practicable las actividades de lucha en gran escala basadas en las medidas tradicionales y que tal vez la única soluci3n viable para evitar el gran n3mero de enfermos y muertes causados por la malaria sea un programa de vacunaci3n destinado a esos grupos.

Características de ciertas condiciones epidemiol3gicas. Existen varias condiciones epidemiol3gicas en las que las vacunas pueden tener un efecto notable en la morbilidad y la mortalidad. En las zonas de endemicidad elevada, se deben seleccionar las comunidades que se incluirán en los ensayos de fase IV de acuerdo con las siguientes características: poblaciones relativamente estables; existencia de proyectos importantes de desarrollo en la zona; poblaciones relativamente estables; disponibilidad de informaci3n demográfica esencial y de servicios básicos de salud. En la actualidad, las zonas tropicales rurales de Africa y Pa-

púa Nueva Guinea son ejemplos de lugares donde se pueden encontrar estas condiciones.

Para los estudios de grupos en riesgo especiales, es preferible considerar los de colonos no inmunes que se trasladan a zonas de transmisión elevada. En estos casos es esencial determinar el origen y el destino de la población. Se presume que la población no inmune seguirá expuesta a cierto riesgo de infección durante un período suficientemente largo para comprobar la eficacia de la vacuna. Tailandia, Sri Lanka y Sudán son ejemplos de zonas donde actualmente se dan esas condiciones.

Métodos y diseño del estudio. Lo más probable es que los estudios de fase IV se diseñen como estudios de cobertura total con zonas adecuadas para la comparación.

Las mediciones de la mortalidad y la morbilidad merecen atención especial. La mortalidad específica según la edad es el indicador más práctico de cualquier cambio y se puede determinar mediante encuestas periódicas, usando los resultados de estudios efectuados con otros fines y mediante la extrapolación de datos de los registros de salud existentes, apoyada por la confirmación de esos datos a nivel de la comunidad. La elevada frecuencia de fiebres de origen desconocido que pueden coexistir con la parasitemia asintomática dificulta la identificación de los casos de malaria y su definición como tales en zonas holoendémicas e hiperendémicas. No obstante, es importante establecer los parámetros para medir la morbilidad en una zona específica.

Detección de casos. La detección se basará en los servicios locales de salud, fortalecidos o desarrollados en la medida necesaria para que proporcionen una evaluación eficiente de las repercusiones de la vacunación en la infección, la morbilidad y la mortalidad. Las variables que se evaluarán en los casos detectados abarcan elementos clínicos, parasitológicos e inmunológicos, incluida la condición de los casos detectados en cuanto a la vacunación (en particular en los casos graves).

Encuestas de la población. En encuestas efectuadas una o dos veces al año, posiblemente en base a muestreo, se evaluarán variables parasitológicas e inmunológicas.

Registro y certificación de defunciones. Se realizará esta labor en la medida posible y, cuando sea factible, se determinará la condición de los fallecidos en relación con la vacunación.

Apoyo de laboratorio. El servicio de laboratorio debe tener el grado de competencia que se requiere para la labor de campo y para la recogida, transporte y análisis de las muestras.

Monitorización entomológica. Será preciso estimar el índice de inoculación (epidemiológica) en el transcurso del tiempo y entre las zonas vacunadas y las no vacunadas, usando los índices de esporozoitos y de densidad de vectores, y (cuando sea posible) las frecuencias medias de picaduras.

Monitorización de aspectos del comportamiento humano individual y social. Se incluyen aquí actitudes y respuestas de la población en relación con la malaria y la vacunación, entre ellas las vinculadas con el cumplimiento de indicaciones durante el período de estudio.

En este contexto, podría resultar muy útil la experiencia adquirida en el Programa Ampliado de Inmunización de la OMS. Pueden surgir problemas especiales causados por las reacciones en el sitio de inyección. También será importante contar con datos básicos acerca del comportamiento individual y familiar con respecto a la transmisión de la malaria, medidas para combatir la enfermedad, y modificaciones de comportamiento durante el período de estudio. Se puede efectuar dicha monitorización de forma estacional.

Secuencia en el tiempo. Las pruebas de la fase IV requieren una etapa preparatoria que dependerá de la disponibilidad de personal capacitado y de la calidad y alcance de los datos iniciales. Esa etapa preparatoria abarca la recopilación de datos parasitológicos, entomológicos y epidemiológicos para definir la posibilidad de establecer comparaciones entre las zonas con y sin medidas de intervención. En consecuencia, se realizará la selección definitiva de los lugares tan pronto como las presuntas vacunas hayan sido aprobadas a partir de la fase II. De hecho, entre los posibles lugares para los ensayos de fase IV pueden considerarse los usados en la fase III. Esta decisión debe anticiparse lo más pronto posible, al iniciar los ensayos de fase II.

Ciertos estudios, en particular los que incluyen la evaluación de pruebas diagnósticas de gran especificidad y sensibilidad (tanto parasitológicas como epidemiológicas), deben repetirse en distintas condiciones epidemiológicas de campo tan pronto como se haya efectuado una rigurosa validación clínica y/o de laboratorio de las técnicas apropiadas. Se requerirá un período mínimo de dos años para estimar las repercusiones en la morbilidad y la mortalidad en zonas de transmisión elevada y en grupos de alto riesgo.

Evaluación de las repercusiones de la inmunización contra la malaria en la transmisión de la enfermedad

Situaciones apropiadas para los estudios. Las situaciones más provechosas para investigar la reducción de la transmisión como resultado de la vacunación se encuentran en aquellas zonas donde la transmisión ha disminuido en intensidad pero no ha sido interrumpida por las medidas antimaláricas. En esas circunstancias, la vacuna podría bastar para detener la transmisión. Son igualmente importantes los estudios en zonas donde es difícil controlar la enfermedad con los métodos existentes.

También se deben realizar estudios en zonas donde no es probable que se logre interrumpir la transmisión o mantener esa interrupción ni siquiera con la vacunación, pero donde la transmisión no es de tal intensidad que excluya la suma del efecto de la vacunación y del refuerzo producido por la transmisión natural.

Los proyectos que investigan la protección individual podrían mostrar la importancia de ese refuerzo natural. La reducción de la incidencia de la malaria en una muestra aleatoria de la población no vacunada podría proporcionar información sobre la disminución de la transmisión cuando parte de la población que reside en el mismo lugar está inmunizada. Es muy probable que si se obtiene un alto grado de protección individual durante un período suficientemente prolongado, habrá demandas de ampliar la vacunación a comunidades

enteras (es decir, a todos los que podrían beneficiarse); mediante la medición de la transmisión en esas comunidades, en comparación con las no vacunadas, es posible estimar los efectos de la inmunización sobre la transmisión.

El número de comunidades vacunadas y no vacunadas que se incluirán en un ensayo tiene importancia. Cuando la unidad para la evaluación es una "unidad de transmisión" (por ejemplo, una aldea), se plantea la cuestión de cuántas unidades se requerirán para el análisis estadístico. Cuanto mayor sea el número de "unidades de transmisión" que se pueda observar en forma independiente, menos ambigua será la interpretación de los resultados. En la práctica, el límite de la cantidad de aldeas que se pueden observar por separado está generalmente determinado por la capacidad de efectuar mediciones entomológicas y malariológicas adecuadas.

En algunas zonas, la vacunación puede interrumpir la transmisión por sí sola o, más probablemente, en combinación con otras medidas de control. Se puede monitorizar ese efecto usando los instrumentos malariológicos y epidemiológicos estandarizados.

Otros factores de indudable trascendencia para la interrupción a largo plazo de la transmisión son los recursos económicos, administrativos y humanos, y su apropiada disponibilidad en relación con el problema. El mantenimiento de una eventual erradicación dependerá de la vulnerabilidad de la zona, capacidad de detección temprana y control de episodios de reanudación de la transmisión.

Diseño del estudio. En una comparación entre comunidades vacunadas y otras no vacunadas antes y después de la introducción de la vacuna, la población seleccionada será toda la comunidad, exceptuando contraindicaciones. Otros mé-

todos de control serán idénticos en ambas comunidades.

Inicialmente, habrá que considerar susceptibles y expuestos a la infección a todos los individuos de la población elegida, si bien el grado de susceptibilidad podría variar según los antecedentes de malaria y otros factores.

Es preciso dar indicaciones claras acerca de cuándo debe vacunarse a los recién nacidos y a los inmigrantes; la justificación y los criterios para la revacunación deben derivarse de los ensayos de fase III.

Los métodos complementarios de intervención incluirán al menos el diagnóstico precoz, el tratamiento y el seguimiento de los casos clínicos de malaria; no obstante, es probable que en muchas circunstancias haya que considerar otras medidas para combatir la transmisión de la enfermedad, como la lucha antivectorial y la reducción del contacto entre el hombre y el vector (por ejemplo, aspectos del comportamiento, empleo de mosquiteros, etc.).

La administración masiva de medicamentos puede estar indicada en la ronda inicial de vacunación, cuando los estudios de las fases II y III han revelado que el grado de inmunidad inducido por la vacuna se halla considerablemente disminuido por la actual infección malárica. En otras circunstancias, es poco probable que la administración en masa de medicamentos constituya una forma de intervención durante los ensayos de fase IV.

Población de estudio. Habrá que subdividir la población de estudio en grupos de vacunados y no vacunados. Esas subdivisiones, en la medida de lo

posible, deben solo diferir en ese aspecto y habrá muy poco o ningún intercambio entre ellos.

Cuando el propósito es determinar si se interrumpe o no la transmisión en el grupo sometido a intervención, no es estrictamente necesario tener a un grupo no vacunado. Sin embargo, un grupo de comparación permitirá evaluar cómo afectan a la transmisión los cambios producidos en forma natural y los causados por el hombre; estos últimos son probables, ya que las otras medidas de control tienden a fortalecerse en el transcurso de los estudios intensivos.

Cronología. La cronología del estudio puede ser la siguiente: etapa preparatoria de seis meses a un año; etapa inicial (antes de la intervención) de uno o dos años; etapa de intervención, flexible, en principio de tres años con revisiones anuales, y la posibilidad de prolongarla o darla por terminada antes. No obstante, estos períodos se pueden modificar de acuerdo con experiencias futuras.

Evaluación. La evaluación de la reducción o interrupción de la transmisión exige una revisión crítica. Se requerirán los siguientes datos: tasa de esporozoitos, tasa de parásitos (hay que establecer criterios) y la respuesta inmunitaria contra formas hemáticas (tasa de seropositividad o títulos de anticuerpos) cuando no se emplean vacunas preparadas con formas eritrocitarias asexuadas. Se prevé una disminución de estos parámetros si se reduce la transmisión, pero no se conoce la proporción de la disminución que corresponde a la interrupción de la transmisión

(la determinación de la tasa de dicha disminución puede ser un valioso resultado derivado de un ensayo satisfactorio, teniendo en cuenta que el empleo de medicamentos puede ser un factor de interferencia).

La incidencia de la malaria en los no vacunados representa otro parámetro útil. Es probable que entre los sujetos no vacunados se incluyan las siguientes categorías: personas pasadas por alto, individuos que rechazan la vacunación, inmigrantes, visitantes, personas eximidas (contraindicaciones) y lactantes aún no vacunados. Debe hacerse un esfuerzo especial para detectar infecciones por *P. falciparum* en esos grupos y clasificarlas según su origen. No obstante, esos grupos pueden ser pequeños o difíciles de evaluar (por ejemplo, los que rehúsan la vacunación o los visitantes). La incidencia de la malaria entre los vacunados indicará la transmisión local *más* el fracaso de la vacuna o la pérdida de protección.

En los sujetos inmunizados con vacunas antiesporozoitos, sería importante comprobar si las técnicas de laboratorio son suficientemente específicas y sensibles para detectar un aumento del título de anticuerpos correspondientes después de la inoculación natural de esporozoitos. Si es así, estas técnicas podrían ser el método más sensible para detectar la persistencia o reanudación de la transmisión.

Se supone que la vacuna que bloquea la transmisión se empleará en combinación con otros tipos de vacuna antimalárica. Sin embargo, esta vacuna en sí puede tener un valor especial para reducir o prevenir la propagación de mutantes antigénicos o en operaciones destinadas a circunscribir la malaria farmacorresistente. En vista de estas consideraciones, hay que contemplar la realización de ensayos en aldeas o en gran escala para evaluar los efectos de una vacuna que bloquea la transmisión sobre la

tasa de inoculación entomológica y otros parámetros de la transmisión.

RESUMEN

A pesar de los avances considerables logrados recientemente en el control de la malaria, esta enfermedad continúa siendo un importante problema de salud pública en muchos países tropicales y subtropicales. En los últimos años se ha progresado rápidamente en el desarrollo de vacunas contra la malaria y se espera que en un futuro no lejano tengan una función notable en el control de la enfermedad. En este memorándum se presentan las estrategias recomendadas por la Organización Mundial de la Salud para llevar a cabo los ensayos de vacunación.

Las vacunas contra la malaria se basarán en antígenos puros del parásito que estimulen específicamente las respuestas inmunitarias protectoras. Teniendo en cuenta el ciclo biológico del *Plasmodium*, se están desarrollando tres tipos de vacunas: contra los esporozoitos, contra las formas hemáticas asexuadas y contra los gametos. Cada una de ellas proporcionaría una inmunidad específica y su aplicación estaría dirigida a determinados grupos de población en situaciones epidemiológicas diversas. La vacuna contra los esporozoitos, si es totalmente eficaz, impedirá el desarrollo de los plasmodios en el huésped. Una vacuna de este tipo podría interrumpir la

transmisión natural de la malaria, aunque un determinado sujeto podría presentar la enfermedad clínica tras la transfusión de sangre infectada, por falta de inmunidad a las formas hemáticas asexuadas. La vacuna contra las formas eritrocitarias asexuadas restringe la replicación de dichas formas, sin inducir inmunidad estéril. Esta vacuna reduciría la morbilidad y la mortalidad de la enfermedad, pero los individuos inmunizados continuarían siendo sensibles a la infección por esporozoitos. Por último, las vacunas contra los gametos o por bloqueo de la transmisión reducirían la tasa de transmisión de la malaria endémica y contribuirían sustancialmente al control de la enfermedad. Los sujetos vacunados con este tipo de vacuna no estarían protegidos frente a los esporozoitos, ni frente a las formas hemáticas asexuadas.

Se revisan detalladamente las características de los ensayos clínicos de fase I, II, III y IV. Los ensayos de fase I se efectuarán en zonas de malaria no endémica, en voluntarios adultos varones sanos y no inmunes, con el fin de estudiar la tolerancia sistémica y local y las respuestas inmunitarias a un antígeno malárico que en los ensayos preclínicos (fase 0) haya demostrado su utilidad. Los ensayos de fase II incluyen la inoculación experimental en el centro de estudios (fase IIa) y en un medio natural (fase IIb). Su objetivo es comprobar la producción de inmunidad protectora, y continuar la monitorización de la seguridad, tolerancia y aceptabilidad de la vacuna. Los ensayos de fase III se dirigen a una población elegida, expuesta a la inoculación natural, a la que en definitiva está destinada la vacuna. La fase IV, posterior al registro de la vacuna, está dedicada a la monitorización de la seguridad, eficacia y repercusiones epidemiológicas de la vacunación. □

REFERENCIAS

- 1 Organización Mundial de la Salud. World malaria situation 1982. *World Health Stat Q* 37:130-161, 1984.
- 2 Organización Mundial de la Salud. *Paludismo*. 17° informe del Comité de Expertos de la OMS. Ginebra, 1979. Serie de Informes Técnicos 640.
- 3 Organización Mundial de la Salud. *La lucha antipalúdica como parte de la atención primaria de salud*. Informe de un Grupo de Estudio de la OMS. Ginebra, 1984. Serie de Informes Técnicos 712.
- 4 Organización Mundial de la Salud. *Resistencia de los vectores de enfermedades a los plaguicidas*. Quinto informe del Comité de Expertos de la OMS en Biología de los Vectores y Lucha Antivectorial. Ginebra, 1980. Serie de Informes Técnicos 655.
- 5 Organización Mundial de la Salud. *Progresos en la quimioterapia del paludismo*. Informe de un Grupo Científico de la OMS. Ginebra, 1984. Serie de Informes Técnicos 711.
- 6 *Tropical disease research. Seventh programme report, 1 January 1983-31 December 1985*. Ginebra, Programa Especial PNUD/Banco Mundial/OMS de Investigaciones y Enseñanzas sobre Enfermedades Tropicales, 1985.
- 7 Report on the International Conference on the Role of the Individual and the Community in the Research, Development, and Use of Biologicals. *Bull WHO* 55 (supl. 2):167-177, 1977.
- 8 Organización Mundial de la Salud. *Patrones biológicos*. 18° informe del Comité de Expertos de la OMS. Ginebra, 1966. Serie de Informes Técnicos 329.
- 9 Organización Mundial de la Salud. *Patrones biológicos*. 30° informe del Comité de Expertos de la OMS. Ginebra, 1979. Serie de Informes Técnicos 638.
- 10 Organización Mundial de la Salud. *Sustancias biológicas. Patrones, preparaciones de referencia y reactivos de referencia internacionales, 1984*. Ginebra, 1984.
- 11 Quality control of biologicals produced by recombinant DNA techniques. *Bull WHO* 61: 897-911, 1983.
- 12 Organización Mundial de la Salud. *Normas para sustancias biológicas*. Informe de un Grupo de Expertos de la OMS. Ginebra, 1966. Serie de Informes Técnicos 323.

SUMMARY

PRINCIPLES OF MALARIA VACCINE TRIALS: MEMORANDUM FROM A WHO MEETING

Despite the considerable advances recently achieved in malaria control, the disease has remained a major public health problem in many tropical and subtropical countries. The development of vaccines against malaria has progressed rapidly over the past few years, and it is expected that they will play an important role in controlling the disease in the not-too-distant future. This Memorandum presents the strategies

recommended by the World Health Organization for the performance of malaria vaccine trials.

Malaria vaccines will be based on pure parasite antigens which specifically stimulate protective immune responses. In view of the life cycle of the *Plasmodium*, the three types of vaccine now being developed target sporozoites, asexual erythrocytic stages, and gametes. Each vaccine would con-

fer specific immunity and its application would thus be directed at different population groups according to their epidemiological situations. A sporozoite vaccine, if fully effective, would prevent plasmodial development in the host. A vaccine of this type should be able to interrupt the natural transmission of malaria, although a given subject would show clinical illness if transfused with infected blood since he/she would not be immune to the asexual erythrocytic forms. An asexual erythrocytic-stage vaccine would restrict the replication of these forms, but would not induce sterile immunity. Such a vaccine would reduce morbidity and mortality due to malaria, but immunized persons would remain susceptible to sporozoite infection. The vaccine against gametes (transmission-blocking) would reduce the overall rate of malaria transmission in endemic areas and thereby contribute substantially to its control. Subjects immunized with this type of vaccine would not be protected against sporozoites or asexual erythrocytic forms.

All aspects of phases I, II, III, and IV clinical trials are reviewed in detail.

Phase I trials are carried out on healthy adult male nonimmune volunteers in areas where malaria is not endemic, in order to assess the local and systemic tolerance and immune responses to a malaria antigen that has been shown to be useful during preclinical (phase 0) studies. Phase II trials include experimental challenge at the research center (phase IIa) and exposure to natural challenge (phase IIb). Their aim is to demonstrate the development of protective immunity and to continue to monitor the vaccine's safety, tolerability, and acceptability. Phase III trials test vaccine efficacy in a target community exposed to natural challenge, where the vaccine would ultimately be used. Phase IV follows registration of the vaccine and consists of monitoring its safety, efficacy, and its impact on the epidemiological situation.

Actividades de la OMS en investigación

Por segunda ocasión la Oficina de Fomento y Desarrollo de las Investigaciones de la OMS ha elaborado un compendio bienal de sus actividades, titulado "WHO research activities. Bienium 1984-1985" (WHO document RPD/COM/86). El documento describe a grandes rasgos cada uno de los trabajos de investigación sobre control de enfermedades diarreicas, reproducción humana y enfermedades tropicales llevados a cabo por la OMS durante 1984 y 1985. Incluye además estudios efectuados por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC), una lista de los proyectos de investigación realizados por otros organismos con el apoyo de la OMS y un cuadro de las inversiones efectuadas en investigación. Las personas interesadas en adquirir este documento deben solicitarlo a: Oficina de Fomento y Desarrollo de las Investigaciones, Organización Mundial de la Salud, 1211 Ginebra 27, Suiza.