

Seguridad e inmunogenicidad de la vacuna oral anticólera de células enteras muertas y de la subunidad B recombinante de la toxina en Barranquilla, Colombia¹

Alberto Concha,² Alejandro Giraldo,³ Elizabeth Castañeda,³
Mancel Martínez,³ Fernando de la Hoz,³ Fabio Rivas,³
Ariel Depetris,⁴ Ann-Mari Svennerholm⁵ y David A. Sack⁶

Durante enero y febrero de 1992, se evaluaron la seguridad e inmunogenicidad de dos dosis de la nueva vacuna anticólera oral a base de células enteras muertas y de la subunidad B recombinante de la toxina (CE/sBr) en 1165 personas de 12 meses a 64 años de edad en Barranquilla, Colombia. El ensayo fue aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo. Los participantes recibieron dos dosis de vacuna o de placebo (Escherichia coli K12 muerta) con un intervalo de 2 semanas. Se detectaron pocos síntomas durante los 3 días siguientes a la primera dosis y menos después de la segunda. Se determinó la presencia de anticuerpos vibriocidas y antitoxina contra Vibrio cholerae 01 Inaba al administrar la primera dosis y 2 semanas después de la segunda. La media geométrica de los títulos (MGT) de anticuerpos vibriocidas se duplicó en los vacunados. Se observaron aumentos del doble en 44% y otros mayores o iguales al cuádruplo en 34% de las muestras pareadas de los vacunados en comparación con 9,2 y 2,2% de quienes recibieron placebo ($P < 0,05$). La MGT de antitoxina IgG e IgA determinados con la prueba de ELISA aumentó 4 y 3,2 veces, respectivamente, en los vacunados y 1,1 en los que recibieron placebo (IgG, $P < 0,001$ e IgA, $P < 0,01$). Alrededor de 80% de las muestras pareadas del grupo vacunado mostraron un aumento de antitoxina IgG e IgA $\geq 1,5$ contra 20% de las del grupo tratado con placebo ($P < 0,000001$). La pertenencia al grupo sanguíneo O no afectó a la respuesta inmunitaria. Los menores de 4 años mostraron una respuesta de anticuerpos vibriocidas más débil y de antitoxina más pronunciada que el resto de la muestra. Las dos dosis de vacuna oral fueron seguras y sin efectos secundarios atribuibles. La respuesta de anticuerpos vibriocidas y de antitoxina fue similar a la observada antes con la vacuna anticólera oral a base de células enteras muertas y de la subunidad B convencional de la toxina.

La reducción de la incidencia y gravedad del cólera que se logró en Bangladesh con la vacuna anticólera oral a base de células enteras

teras muertas y de la subunidad B de la toxina (CE/sB) (1-4) despertó interés en su posible uso en América del Sur. Sin embargo, los resultados obtenidos en Bangladesh no podían extrapolarse directamente a esta región ya que la vacuna se había modificado y la situación epidemiológica y los factores de riesgo de cólera eran diferentes (2, 3). La nueva vacuna se diferenciaba de la anterior principalmente por la inclusión de una subunidad B recombinante (Br) en lugar de la subunidad B nativa empleada anteriormente. Desde el punto de vista epidemiológico, en América del Sur la población en riesgo era inmunológicamente virgen e incluía una mayor proporción

¹ Se publica en el *Bulletin of the Pan American Health Organization*, Vol. 29, No. 4, 1995, con el título "Safety and immunogenicity of oral killed whole cell recombinant B subunit cholera vaccine in Barranquilla, Colombia".

² Colombia, Ministerio de Salud, Santafé de Bogotá. Las solicitudes de separatas deben dirigirse a este autor a la siguiente dirección postal: Carrera 115 #6-140 C20, Cali, Colombia; fax: 57-2-8839134; teléfono: 57-2-554 2483/58.

³ Colombia, Instituto Nacional de Salud, Santafé de Bogotá.

⁴ Organización Panamericana de la Salud (Representación OPS/OMS en Colombia), Santafé de Bogotá, Colombia.

⁵ Universidad de Göteborg, Göteborg, Suecia.

⁶ Universidad Johns Hopkins, Baltimore, Maryland, Estados Unidos de América.

de personas del grupo sanguíneo O que la población de Bangladesh. Este tipo sanguíneo ha sido considerado como factor de riesgo del cólera y de fracaso de la vacuna (5).

Por las razones expuestas, se estimó necesario estudiar las posibilidades de la vacuna antes de formular políticas sobre su uso en América del Sur. El objetivo del presente estudio fue evaluar la seguridad y la capacidad inmunógena de la nueva vacuna CE/sBr antes de llevar a cabo un ensayo de campo de eficacia, fase III, en Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Se planeó un ensayo de campo de dos meses de duración, para evaluar la seguridad e inmunogenicidad de la vacuna oral anticólera CE/sBr mediante su administración en dos dosis —la segunda dosis a las 2 semanas— a una muestra representativa de la población, seleccionada de forma aleatoria, del barrio Los Olivos, de Barranquilla, Colombia. El ensayo doble ciego fue controlado con placebo. Se garantizó el seguimiento de todos los participantes, las tomas de sangre y el cumplimiento de los criterios éticos.

Población y selección de la muestra

El estudio se realizó durante enero y febrero de 1992 en una población de situación socioeconómica homogénea. En esta comunidad densamente poblada de casas de una y dos habitaciones, muchas familias no tenían servicios domiciliarios de agua ni de alcantarillado. Al inicio de la investigación se prepararon mapas del barrio y se recogió información acerca del número de habitantes en cada casa, el número de familias por manzana y la composición por edad de sus miembros. Se numeraron las 130 manzanas del barrio y, a partir de una que se designó al azar, se escogieron las viviendas de una de cada siete manzanas hasta reunir 250 familias.

Para obtener la participación de las familias seleccionadas, varios equipos de motivadores las visitaron, les explicaron de qué se trataba el estudio y solicitaron que cada participante —o sus padres, si era menor de 18 años— firmara un formulario de consentimiento individual. Los motivadores también registraron a los miembros de cada familia en un formulario y los datos se digitaron en computador. Basándose en esta información se prepararon formularios de vacunación, en los que se anotaron los identificadores particulares y la dirección de todas las personas elegibles que aceptaron participar.

Aparte de lograr el tamaño apropiado de la muestra, los únicos criterios de selección fueron que las personas tuvieran de 12 meses a 64 años de edad y que hubieran residido en el barrio por lo menos 2 meses. Los criterios de exclusión fueron embarazo confirmado o posible, enfermedad que obligara a guardar cama y trastorno mental conocido que limitara la capacidad de dar el consentimiento. También se excluyó a las personas con diarrea en el momento de administrar cualquiera de las dos dosis para poder descubrir nuevos episodios de diarrea después de la vacunación.

El tamaño de la muestra se determinó teniendo en cuenta que fuera apropiado para detectar diferencias de los efectos secundarios en la respuesta serológica. Se presumió que 5% del grupo que recibiera placebo podría informar de efectos secundarios y que un aumento a 10% entre los vacunados tendría importancia clínica. La detección de una diferencia de 10 a 5% ($\alpha = 0,05$; poder estadístico o potencia = $1 - \beta = 90\%$) exigía vigilar a 560 participantes por grupo. Por la posible pérdida de sujetos entre una y otra dosis, se amplió en 30% el tamaño proyectado de la muestra. En lo concerniente a la respuesta serológica, era de esperar que la vacuna estimulara la producción de anticuerpos por lo menos en 25% de los vacunados y en 1% de quienes recibieran placebo. La detección de esa diferencia exigía una muestra de 24 personas por grupo ($\alpha = 0,01$; $1 - \beta = 90\%$). En el cálculo del tamaño de la muestra se empleó el programa de computadora Epi Info, versión 5 (6).

Administración de la vacuna

De las viviendas con familias participantes se escogieron aleatoriamente 42 viviendas por manzana para recibir la vacuna o el placebo. Cada participante recibió vacuna o placebo según la aleatorización previa por vivienda. Los equipos de vacunación visitaron las casas, confirmaron la identidad de los participantes y administraron las dosis.

La vacuna oral a base de células enteras muertas de *V. cholerae* (10^{11} vibriones por dosis) y de la subunidad B recombinante de la toxina (1 mg por dosis) fue preparada en el Laboratorio Nacional de Bacteriología de Estocolmo, Suecia, mantenida en frascos de dosis múltiples y refrigerada hasta el momento de administración (7, 8).

El placebo consistió en células enteras muertas de *Escherichia coli* K12 no enterotoxigena, con una densidad óptica igual a la de la vacuna. La inclusión de bacterias muertas en el placebo obedeció a la necesidad de que fuera inocuo pero tuviera ciertas características (aspecto, sabor y olor) similares a las de la vacuna, lo que no se pudo obtener con ninguna solución química. Ambos agentes se administraron en doble ciego; los equipos de vacunación los diferenciaron solamente como vacuna A y vacuna B.

Cada dosis (3 ml por dosis) se dispensó con un dispositivo de bombeo a un vaso plástico que contenía una solución tampón (Samarin, 50 g por litro) capaz de proteger la subunidad B sensible al ácido gástrico (9). La solución tampón contenía (por 100 ml) 2,66 g de bicarbonato sódico; 1,6 g de ácido tartárico; 535 mg de ácido cítrico; 150 mg de carbonato sódico; 50 mg de tartrato potásico sódico, y 2,5 mg de dióxido de sílica coloidal. Se administró a todos los participantes una dosis idéntica de vacuna, excepto por el volumen de solución tampón, que varió de acuerdo con la edad (≥ 12 años, 150 ml; de 6 a 11 años, 75 ml; de 3 a 5 años, 40 ml; de 1 a 2 años, 10 ml). Un miembro del equipo de vacunación observó la toma de cada dosis. No se impuso ninguna restricción en cuanto a la ingestión de comida o líquido durante la vacunación ni después.

Vigilancia de efectos secundarios

En los 3 días siguientes a la vacunación, varios equipos de enfermeras —que tampoco sabían nada de la asignación de los agentes— visitaron a diario a cada persona vacunada para registrar cualquier síntoma que pudiera presentarse. Se emplearon formularios previamente codificados para solicitar información sobre la frecuencia de diarrea, náusea, vómito y cólico abdominal, y registrar otros síntomas no relacionados particularmente con las vías gastrointestinales. Puesto que no se vacunó a ningún participante que se quejara de síntomas el día de la vacunación, se supuso que todos los síntomas notificados a los equipos de vigilancia eran nuevos.

Serología

Los equipos recogieron muestras de sangre en el momento de administrar la primera dosis de vacuna y 2 semanas después de la segunda. Se recogió sangre capilar por punción digital (0,1 ml) con pipetas calibradas y se colocó en frascos con 0,9 ml de solución salina. La sangre diluida se refrigeró y se envió al laboratorio para centrifugación; el suero se separó y congeló para análisis serológico posterior. También se analizaron los eritrocitos de las segundas muestras para identificar a los grupos sanguíneos ABO y Rh (10). Ninguno de los técnicos de laboratorio que cuantificaron los anticuerpos vibriocidas y la antitoxina sabía cómo se había asignado la vacuna.

Los títulos de anticuerpos vibriocidas se determinaron empleando un método de microtitulación estándar con la cepa *Vibrio cholerae* 01 T19479 Inaba (10), que consiste básicamente en mezclar una serie de diluciones dobles de cada suero con un inóculo estandarizado de la bacteria y complemento de cobayo. El título correspondió a la máxima dilución del suero que inhibía totalmente el crecimiento de *V. cholerae* 01. Si se observaba crecimiento en el primer pozo, se presumía que el suero tenía un título de 10, que es la mitad del título de la dilución del primer pozo,

es decir, 20. Se estimó que un aumento del doble entre los títulos de la primera y segunda muestras indicaba un resultado positivo.

Los títulos de IgG e IgA antitoxina obtenidos con la prueba ELISA se determinaron mediante un método de microtitulación con placas de baja avidéz (10). Inicialmente se emplearon placas con alta avidéz (Immulon II, Dynatech), pero se obtuvieron títulos de referencia falsamente altos. Los títulos se calcularon sobre la base de la dilución interpolada de suero con una densidad óptica de 0,4 por encima del valor de base. Los sueros pareados (tomados antes y después de las dos dosis de vacuna o placebo) se analizaron simultáneamente en una misma placa. Se incluyó un suero estándar de alta titulación en cada placa para garantizar el control de la calidad. Se determinó que un aumento del título de > 1,5 mostraba seroconversión.

Métodos estadísticos

Se analizaron las diferencias estadísticas en cuanto a efectos secundarios presentados por quienes recibieron la vacuna o el placebo con la prueba de ji cuadrado (χ^2) para proporciones. Se calculó la incidencia de cada síntoma en los 3 días siguientes a la administración de cada dosis y luego se determinaron los riesgos relativos, con intervalos de confianza de 95%. La significación de las diferencias entre los cambios de los títulos de anticuerpos se determinó mediante la prueba de ji cuadrado. Para hacer una comparación entre los títulos de anticuerpos vibriocidas (IgG e IgA) de las personas que recibieron vacuna o placebo, se efectuó una transformación logarítmica con la media geométrica de los títulos y se analizaron con la prueba t de Student.

Análisis científico y ético

El protocolo de estudio se preparó después de una reunión organizada por la OPS y celebrada en Washington, D.C. del 3 al 4 de mayo de 1991, en la que se señalaron priori-

dades para evaluar vacunas contra el cólera en la Región de las Américas. La reunión incluyó a consultores y funcionarios de la OPS y la OMS. El protocolo y los recursos fueron examinados por un comité de expertos conformado por funcionarios y consultores de ambas organizaciones. También fue revisado por autoridades nacionales y regionales de salud, así como por los comités de evaluación ética del Instituto Nacional de Salud, Santafé de Bogotá, y de la OPS. Además de las autorizaciones oficiales, dicho Instituto pidió a un grupo de médicos e inmunólogos consultores colombianos que hicieran un examen independiente del protocolo.

RESULTADOS

Características de la población

Se incluyeron 40 manzanas del barrio Los Olivos, que comprendían 515 hogares, 568 familias y 3028 personas. En promedio, cada manzana tenía 12,88 hogares y 14,20 familias, con 5,88 personas por familia en la zona del ensayo. Aceptaron participar 1933 personas (64%) que firmaron un formulario de consentimiento individual; 1313 (43% de la población inicial) recibieron la primera dosis de vacuna o placebo y 1165 (88,7% de estos, la segunda. De las personas que dieron inicialmente su consentimiento, 620 decidieron no participar a causa de una campaña política contra el proyecto de vacunación.

La composición por edad de los participantes se comparó con la de la población general de Barranquilla, sin que se observaran diferencias. La mayoría de los participantes tenían de 15 a 64 años de edad (cuadro 1) y 62% pertenecían al grupo sanguíneo O.

Inicialmente, el grupo que recibió placebo tenía 95 participantes más que el de la vacuna, debido a que las familias que lo recibieron fueron de mayor tamaño que las que recibieron la vacuna. Después de la deserción de otras personas que ya habían dado su consentimiento, el número de quienes tomaron la primera dosis de placebo superó al de vacunadas en 105.

CUADRO 1. Composición por edad de los participantes que recibieron dos dosis de vacuna anticólera CE/sBr o placebo. Barranquilla, Colombia, 1992

Grupo de edad (años)	Primera dosis				Segunda dosis			
	Vacuna		Placebo		Vacuna		Placebo	
	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
1-4	91	(15,1)	93	(13,1)	87	(16,4)	84	(13,2)
5-14	203	(33,6)	250	(35,3)	186	(35,1)	236	(37,2)
15-64	310	(51,3)	366	(51,6)	257	(48,5)	315	(49,6)
Total	604	(100)	709	(100)	530	(100)*	635	(100)*
Vacuna + placebo	1313			1165				

* Tomaron la segunda dosis 87,8 y 89,6% de quienes recibieron la primera dosis de vacuna y placebo, respectivamente.

Vigilancia de los síntomas

Algunos de los participantes notificaron síntomas en los 3 días siguientes a la vacunación (cuadros 2 y 3). Las tasas de incidencia de cólico abdominal y náusea fueron algo más frecuentes en quienes tomaron la vacuna, mientras que la cefalea fue más frecuente después de tomar placebo. Todos los síntomas notificados fueron leves y ninguno exigió atención médica. La tasa de incidencia de diarrea después de la primera dosis se aproximó a 2%, sin que hubiera diferencia significativa entre los dos grupos.

Los síntomas notificados fueron mucho menos frecuentes con la segunda dosis de ambos agentes (véase el cuadro 3). La mayor parte de quienes se quejaron de diarrea la tuvieron solo un día. Si bien tres se enfermaron

por dos o tres días y recibieron sales de rehidratación oral, no llegaron a deshidratarse. Ningún participante tuvo náusea ni dolor abdominal por más de un día.

Inmunogenicidad

Aunque no todos los participantes accedieron a la toma de sangre, se pudo obtener una muestra de tamaño apropiado para el análisis de inmunogenicidad. Del total de 955 especímenes de suero pareados, tomados de personas que recibieron las dos dosis, se seleccionaron al azar 383 para análisis de los títulos de anticuerpos vibriocidas (cuadro 4), de las cuales 162 se emplearon para investigar títulos de antitoxina (cuadro 5). La media geométrica de los títulos (MGT) de anticuerpos vibriocidas aumentó al doble en los

CUADRO 2. Incidencia de síntomas en los 3 días siguientes al recibo de la primera dosis de vacuna anticólera o placebo. Barranquilla, Colombia, 1992

Síntoma	Grupo de edad (años)															
	1-4		5-14				15-64				Total					
	Vacuna	Placebo	Vacuna	Placebo	Vacuna	Placebo	Vacuna	Placebo	Vacuna	Placebo						
	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)				
Diarrea	3	(3)	3	(3)	5	(2)	2	(1)	6	(2)	3	(1)	14	(2)	8	(1)
Náusea	2	(2)	1	(1)	4	(2)	1	(0,4)	9	(3)	5	(2)	15	(3)	7	(1)*
Dolor																
abdominal	6	(7)	2	(2)	17	(9)	8	(3) [†]	24	(8)	18	(5)	47	(8)	28	(4) [‡]
Vómito	0		0		0		0		1	(0,3)	0		1	(0,3)	0	
Cefalea	0		4	(4)	2	(1)	13	(5)	14	(5)	23	(7)	16	(3)	40	(6) [§]
Mareo	0		1	(1)	0		1	(0,4)	8	(3)	7	(2)	8	(1)	9	(1)

* $\chi^2 = 4,5$; $P = 0,033$ para el placebo (A) frente a la vacuna (B); $RR = 0,4$ (IC 95%: 0,16 a 0,96).

[†] $\chi^2 = 5,97$; $P = 0,014$ para A frente a B; $RR = 0,4$ (IC 95%: 0,17 a 0,85).

[‡] $\chi^2 = 9$; $P = 0,0025$ para A frente a B; $RR = 0,5$ (IC 95%: 0,32 a 0,79).

[§] $\chi^2 = 6,1$; $P = 0,013$ para A frente a B; $RR = 5,2$ (IC 95%: 1,2 a 22,7).

CUADRO 3. Incidencia de síntomas en los 3 días siguientes al recibo de la segunda dosis de vacuna anticólera o placebo.* Barranquilla, Colombia, 1992

Síntoma	Grupo de edad (años)															
	1-4		5-14				15-64				Total					
	Vacuna		Placebo		Vacuna		Placebo		Vacuna		Placebo					
	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)				
Diarrea	3	(3,4)	0		1	(0,5)	1	(0,4)	0		1	(0,3)	4	(0,8)	2	(0,3)
Náusea	1	(1,1)	0		0		0		0		0		2	(0,4)	0	
Dolor abdominal	0		0		3	(1,6)	1	(0,4)	7	(2,8)	11	(3,6)	10	(1,9)	12	(1,9)
Vómito	1	(1,1)	0		1	(0,5)	1	(0,4)	1	(0,4)	0		3	(0,6)	1	(0,2)
Cefalea	0		0		3	(1,5)	3	(1,2)	4	(1,6)	6	(1,8)	7	(1,3)	9	(1,8)
Mareo	0		0		1	(0,5)	1	(0,4)	3	(1,2)	0		4	(0,8)	1	(0,2)

* No se observaron diferencias significativas entre los síntomas causados por la vacuna o el placebo.

CUADRO 4. Media geométrica de los títulos de anticuerpos vibriocidas antes y después de recibir las dosis de vacuna anticólera o placebo. Barranquilla, Colombia, 1992

Grupo de edad (años)	Muestras de suero (No.)		Prevacunación		Posvacunación	
	Vacuna	Placebo	Vacuna	Placebo	Vacuna	Placebo
1-4	35	33	11,3	13,4	15,5	14,9
5-14	59	66	16,0	15,5	32,0*	15,2
15-64	98	92	25,8	17,9	62,0*	20,1
Total	192	191	19,1	16,2	39,3*	17,2
Variación proporcional					2,1	1,1

* $P < 0,001$.

CUADRO 5. Media geométrica de los títulos de antitoxina IgG antes y después de recibir dos dosis de vacuna anticólera o placebo. Barranquilla, Colombia, 1992

Grupo de edad (años)	Muestras de suero (No.)		Prevacunación		Posvacunación	
	Vacuna	Placebo	Vacuna	Placebo	Vacuna	Placebo
1-4	10	8	305	288	1466*	329
5-14	21	32	250	240	824*	301
15-64	49	42	148	222	609*	240
Total	80	82	186	234	741*	269
IC de 95% para el total			171-203	219-251	662-836	248-292
Variación proporcional					4,0	1,1

* $P < 0,001$.

vacunados, pero no varió en los tratados con placebo ($P < 0,000001$). En los vacunados, 34% y 44% tuvieron incrementos en el título de anticuerpos vibriocidas de ≥ 4 y ≥ 2 , respectivamente, en comparación con 2% y 9% obtenidos en los que recibieron placebo. Cuando se agruparon todos los títulos vibriocidas, la diferencia entre los que recibieron vacunas o placebo aumentó a ≥ 16 .

La MGT de IgG antitoxina de los vacunados aumentó cuatro veces, pero la de los que recibieron placebo se mantuvo casi invariable ($P = 0,000001$) (véase el cuadro 5). Se observaron incrementos importantes ($> 1,5$ veces) de la IgG antitoxina en 88% de los primeros y 22% de los últimos ($P < 0,000001$). El aumento de la MGT de IgA antitoxina fue de 3,2 y 1,1 veces en los sueros de los que recibieron vacuna o placebo, respectivamente ($P < 0,000001$), y la tasa de seroconversión fue de 80% y 21%, respectivamente ($P < 0,000001$). En 93,7% de los que recibieron vacunas se observó una respuesta de IgG o IgA antitoxina o ambas, en comparación con 30% de los que recibieron placebo ($P < 0,000001$) (cuadro 6).

El análisis de los cambios de títulos por grupo de edad reveló que la respuesta de anticuerpos vibriocidas de los niños de 1 a 4 años fue menor que la de los grupos de mayor edad, ya se expresara como un cambio de la MGT o como un aumento significativo del título (véase el cuadro 4). En cambio, el aumento del título de antitoxinas IgG e IgA fue mayor en el grupo de menor edad (véanse los cuadros 5 y 6).

No se detectaron diferencias significativas entre los participantes del grupo sanguíneo O y los de otros grupos en cuanto a los títulos prevacunales específicos por grupo de edad ni en respuesta a la vacuna. La MGT de IgG antitoxina de los participantes de 1 a 4 años antes de la vacuna fue de 301 en el grupo sanguíneo O y de 291 en los demás ($P = 0,73$); en el grupo de 5 a 14 años de edad, las cifras fueron 252 y 231, respectivamente ($P = 0,6$), y en el grupo de ≥ 15 años de edad, de 186 y 171, respectivamente ($P = 0,6$).

DISCUSIÓN

Al menos una dosis de la vacuna oral anticólera (CE/sBr) se administró a 1313 personas, y a 1165 se les dieron dos dosis en un ensayo de campo doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo en Barranquilla, Colombia, entre enero y febrero de 1992. Este estudio, que se llevó a cabo en una población inmunológicamente intacta de América del Sur, corroboró los resultados de estudios anteriores sobre la seguridad e inmunogenicidad de la vacuna anticólera preparada con la subunidad B recombinante de la toxina (8, 11) (y la vacuna anterior hecha con la subunidad B nativa) (7). Fue importante confirmar la seguridad e inmunogenicidad de la nueva vacuna, dado que contiene una subunidad B de la toxina elaborada por ingeniería genética en lugar de la subunidad B nativa purificada que se había utilizado antes (7). Además, los estudios anteriores de la vacuna con la subunidad B recombinante de la toxina se basaron

CUADRO 6. Media geométrica de los títulos de antitoxina IgA antes y después de recibir dos dosis de vacuna anticólera o placebo. Barranquilla, Colombia, 1992

Grupo de edad (años)	Muestras de suero (No.)		Prevacunación		Posvacunación	
	Vacuna	Placebo	Vacuna	Placebo	Vacuna	Placebo
1-4	10	9	13	19	78*	19
5-14	21	32	17	13	46*	16
15-64	49	42	17	22	49*	25
Total	80	82	16	18	51*	20
IC de 95% para el total			15-17	16-19	47-56	12-22
Variación proporcional					3,2	1,1

* $P < 0,01$.

en un número relativamente limitado de adultos voluntarios, mientras que en este estudio el grupo fue mucho más amplio e incluyó a niños pequeños.

Se notificaron pocos síntomas después de recibir la vacuna o placebo. Algunos síntomas referidos estaban relacionados con alteraciones de salud previamente existentes, como se desprende de las personas tratadas con placebo. Hubo un aumento de la incidencia de cólico abdominal leve y náusea después de administrar la primera dosis de vacuna. La cefalea fue un poco más común después de administrar la primera dosis de placebo. Sin embargo, estas relaciones pueden ser una casualidad, en vista de las muchas comparaciones que permite este tipo de análisis. Raras veces se notificaron síntomas después de la segunda dosis de vacuna o placebo.

Basándose en los títulos de anticuerpos de una muestra aleatoria de 379 especímenes de suero pareados, la vacuna fue tan inmunógena como la CE/sB en la que se empleó la subunidad B nativa (7, 10), y la misma vacuna recombinante administrada a voluntarios sucos y estadounidenses (8, 11). Con objeto de estandarizar los procedimientos y garantizar la obtención de resultados comparables en el futuro, los métodos serológicos empleados en Bogotá se establecieron mediante un adiestramiento ofrecido por el laboratorio sueco y el intercambio de especímenes con este.

En el presente estudio, los niños de 1 a 5 años de edad mostraron una mayor respuesta de antitoxina y una menor de anticuerpos vibriocidas en comparación con los participantes de mayor edad. La similitud de la relación entre la inmunogenicidad y la edad con los resultados obtenidos en Bangladesh indica que la respuesta de anticuerpos vibriocidas relativamente baja de los niños es en realidad una hiporreactividad relacionada con la edad y no sencillamente con la falta de exposición natural previa, como podría concluirse por la experiencia de Bangladesh. Indica además que puede ser difícil proteger a los niños pequeños (< 5 años) con las vacunas orales a base de células enteras muertas.

El grupo sanguíneo O, un factor de riesgo para cólera, no influyó ni en los títulos prevacunales ni en la respuesta a la vacuna. En Bangladesh, los niños del grupo sanguíneo O tuvieron títulos más altos de antitoxina antes de la vacuna (10), pero eso no se vio en Colombia. Puesto que la toxina del cólera es similar a la enterotoxina termolábil producida por *E. coli*, los elevados títulos de antitoxina registrados en Bangladesh podrían haber sido estimulados por una o la otra, y no se pudo hacer una diferenciación entre los dos antígenos. Sin embargo, en la zona de estudio de Barranquilla el cólera se había introducido recientemente, en tanto que la infección por *E. coli* enterotoxígena es común en los niños en América del Sur (12, 13). El que no hubiera una diferencia específica por grupo sanguíneo en los títulos de antitoxina de los niños pequeños colombianos indica la probabilidad de que la diferencia observada en Bangladesh se debiera a la exposición al cólera a temprana edad y que el grupo sanguíneo O probablemente no sea un factor de riesgo de *E. coli* enterotoxígena.

Se cree que la vacuna confiere protección por medio de inmunidad de la mucosa; por ello se cuantificaron las IgA e IgG antitoxina. Se encontraron comúnmente respuestas de IgA antitoxina en el suero, pero los títulos fueron relativamente bajos y el cambio de la respuesta de IgA fue menor que el de IgG. En vista del bajo rendimiento incremental de la valoración de IgA sérica, en futuros estudios se podrían realizar solo las valoraciones de IgG, sobre todo en vista de la correlación existente entre la IgG sérica y la IgA intestinal mostrada en otro estudio (14).

No todas las personas del barrio participaron en el estudio; por ende, es posible que los participantes no sean representativos de la población general. Sin embargo, sus características demográficas son similares a las de la población general, lo que indica una baja probabilidad de que ello constituya una limitación. Además, los participantes no se escogieron al azar hasta después de haber accedido a participar, razón por la cual los grupos que recibieron vacuna o placebo son comparables.

En resumen, este estudio mostró que la vacuna CE/sBr es segura e inmunógena y permite adelantar un estudio de eficacia de fase III en una población similar en América del Sur.

AGRADECIMIENTO

El presente estudio se realizó con el apoyo financiero de la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud. La vacuna para este estudio fue donada generosamente por el Laboratorio Nacional de Bacteriología de Estocolmo, Suecia. Expresamos nuestro profundo agradecimiento por su cooperación a las familias de Los Olivos que participaron en el estudio, al doctor W. Munar del Departamento del Atlántico en Colombia, y al Ministerio de Salud, por su estímulo y apoyo. Hacemos extensivo nuestro reconocimiento a la señora Kierstin Andersson de la Universidad de Göteborg, quien ayudó a establecer las valoraciones serológicas en Santafé de Bogotá. También agradecemos el estímulo y la orientación científica que nos brindaron los doctores Akira Homma (OPS) y Nathaniel Pierce (OMS).

REFERENCIAS

- Holmgren J, Svennerholm AM, Clemens JD, Sack DA, Black R, Levine M. An oral B subunit-whole cell vaccine against cholera: from concept to successful field trial. *Adv Exp Med Biol* 1987;216B:1649–1660.
- Clemens JD, Harris JR, Sack DA, Chakraborty J, Ahmed F, Stanton BF, et al. Field trial of oral cholera vaccines in Bangladesh: results of one year of follow-up. *J Infect Dis* 1988;158(1):60–69.
- Clemens J, Sack DA, Harris JR, vanLoon F, Chakraborty J, Ahmed F, et al. Field trial of oral cholera vaccines in Bangladesh: results from three-year follow-up. *Lancet* 1990;335(8684):270–273.
- Pan American Health Organization. Status of new cholera vaccines. *Bull Pan Am Health Organ* 1991;25(3):278–280.
- Clemens JD, Sack DA, Harris JR, Chakraborty J, Khan MR, Huda S, et al. ABO blood groups and cholera: new observations on specificity of risk and modification of vaccine efficacy. *J Infect Dis* 1989;159(4):770–773.
- Dean JG, Dean JA, Burton AH, Dicker RC. Epi Info, Version 5.01b: a word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. Atlanta, Georgia: Centers for Disease Control and Prevention; 1991.
- Clemens JD, Stanton BF, Chakraborty J, Sack DA, Khan MR, Huda S, et al. B subunit-whole cell and whole cell only oral vaccines against cholera: studies on reactivity and immunogenicity. *J Infect Dis* 1987;155(1):79–85.
- Jertborn M, Svennerholm AM, Holmgren J. Safety and immunogenicity of an oral recombinant cholera B subunit-whole cell vaccine in Swedish volunteers. *Vaccine* 1992;10(2):130–132.
- Clemens J, Jertborn M, Sack DA, Stanton B, Holmgren J, Khan MR, et al. Effect of neutralization of gastric acid on immune responses to an oral B subunit, killed whole-cell cholera vaccine. *J Infect Dis* 1986;154(1):175–178.
- Sack DA, Clemens JD, Huda S, Harris JR, Khan MR, Chakraborty J, et al. Antibody responses following immunization with killed oral cholera vaccines during the 1985 field trial in Bangladesh. *J Infect Dis* 1991;164(2):407–411.
- Sánchez JL, Trofa AF, Taylor DN, Kuschner RA, DeFraités RF, Craig SC, et al. Safety and immunogenicity of the oral, whole cell/recombinant B subunit cholera vaccine in North American volunteers. *J Infect Dis* 1993;167(6):1446–1449.
- Trujillo H, Jaramillo C, Restrepo M, Mejía GI, Zapata CT, Ramírez R, et al. Rotavirus y otros enteropatógenos en la etiología de la diarrea aguda en Medellín, Colombia, 1982. *Bol Oficina Sanit Panam* 1985;98(3):251–260.
- McLean M, Brennan R, Hughes JM, Korzeniowski OM, de Souza MA, Arujo J, et al. Etiology of childhood diarrhea and oral rehydration therapy in northeastern Brazil. *Bull Pan Am Health Organ* 1981;15(4):318–325.
- Svennerholm AM, Jertborn M, Gothefors L, Karim AM, Sack DA, Holmgren J. Mucosal antitoxic and antibacterial immunity after clinical cholera and after cholera disease and after immunization with a combined B subunit-whole cell vaccine. *J Infect Dis* 1984;149(6):884–893.

ABSTRACT

Safety and immunogenicity of oral killed whole cell recombinant B subunit cholera vaccine in Barranquilla, Colombia

During January and February 1992, an evaluation was made of the safety and immunogenicity of two doses of the new oral cholera vaccine made from killed whole cells and recombinant B subunit of the toxin (rBS/WC). The randomized, double-blind, placebo-controlled trial was conducted in 1165 persons aged 12 months to 64 years in the city of Barranquilla, Colombia. The participants received two doses of the vaccine or the placebo (killed *Escherichia coli* K12) with an interval of two weeks between doses. Few symptoms were observed in either group after the first dose during three days of active monitoring; symptoms were even less frequent following the second dose. The presence of *Vibrio cholerae* 01 Inaba vibriocidal and antitoxin antibodies was determined prior to

administration of the first dose and two weeks after the second. Geometric mean titers (GMT) of vibriocidal antibody doubled in vaccine recipients. Two-fold rises were seen in 44% and four-fold or greater rises in 34% of the paired serum samples from vaccine recipients, compared to 9.2% and 2.2% of those receiving placebo ($P < 0.05$). The IgG and IgA antitoxin GMT as measured by ELISA increased by 4 and 3.2 times, respectively, in vaccinees and 1.1 times in placebo recipients (IgG, $P < 0.001$; IgA, $P < 0.01$). About 80% of paired specimens from the vaccine group showed a ≥ 1.5 -fold increase in both IgG and IgA antitoxin, compared to about 20% of the placebo group ($P < 0.000001$). Belonging to blood group O did not affect the immune response. Children under 4 years of age had weaker vibriocidal responses and more pronounced antitoxin responses than older participants. Two doses of the oral vaccine were found to be safe and without attributable side-effects. The vibriocidal and antitoxin antibody responses were similar to those seen previously with oral cholera vaccine made from killed whole cells and conventional B subunit.

Advertencia de publicación duplicada: Riverón Corteguera: Estrategias y causas de reducción de la mortalidad por diarrea infantil en Cuba, 1962–1993

El artículo de R. L. Riverón Corteguera "Estrategias y causas de reducción de la mortalidad por diarrea infantil en Cuba, 1962–1993" se publicó en el *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana* (1995;118(3):201–210) y, en inglés, en el *Bulletin of the Pan American Health Organization* (1995;29(1):70–80). Dicho artículo, sin conocimiento ni autorización de la OPS, se publicó también en el *Boletín Médico del Hospital Infantil de México* (1995;52(1):59–66) con el título "Programa de control de las enfermedades diarreicas: estrategias para reducir la mortalidad, Cuba 1962–1993".

Los artículos que se presentan para publicación a revistas científicas se consideran en el entendimiento de que no han sido publicados previamente ni están bajo consideración de otras revistas. En el *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana/Bulletin of the Pan American Health Organization* se informa a los autores de dichas condiciones cuando se acusa recibo de un manuscrito. La publicación duplicada es contraria a la ética de difusión de la información científica y los autores de trabajos científicos deben saber que es inadmisibles.

La Redacción