

Vacuna Anti-hepatitis B

ELOY L. MANDRILE y GRACIELA M. BONGIORNO de PFIRTER

*Cátedra de Farmacognosia, Departamento de Ciencias Biológicas,
Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata,
Calle 47 y 115, La Plata 1900, Argentina*

RESUMEN. En razón de haberse iniciado en nuestro país la dispensación de inmunoglobulina humana para combatir la hepatitis B y habiendo sido ya codificada (U.S.P. XXI) la vacuna anti-hepatitis B, se consideró oportuno proporcionar una recopilación sobre la etiología, nomenclatura (abreviaturas de antígenos y anticuerpos), prevención e inmunización pasiva y activa frente a las diversas formas de hepatitis, incluyendo las recomendaciones de la OMS para la elaboración de vacunas con ADN recombinante.

SUMMARY. "Anti-hepatitis B Vaccine". Because of in Argentina has began the dispensation of immunoglobulines of human origin against hepatitis B (the anti-hepatitis B vaccine has recently been included into U.S.P. XXI), a brief review on ethiology, antigens and antibodies nomenclature, prevention and immunization against different forms of hepatitis is made includinf WHO recommentations about manufacturing of DNA-recombinant vaccines.

Al iniciarse en nuestro país la dispensación de Inmunoglobulina Humana para combatir la hepatitis B y habiéndose incorporado también a la U.S.P. XXI Ed. la vacuna anti-hepatitis B, juzgamos oportuno informar sobre algunos aspectos de estas nuevas e importantes drogas inmunológicas.

Pueden reconocerse varias formas de hepatitis de origen viral: hepatitis A, hepatitis B, hepatitis no-A no-B y, con el reciente descubrimiento del antígeno δ , la actualmente llamada "hepatitis D"

que representa uno de los progresos de mayor importancia en el conocimiento de las hepatitis virósicas.

La *hepatitis A* es producida por un picornavirus (VHA), se trasmite por vía fecal-oral, no se cronifica y no existen portadores crónicos del virus. Este virus puede desarrollar en cultivos celulares y se está investigando sobre vacunas de virus muertos y vivos atenuados¹.

La *hepatitis B* es originada por un virus recubierto (VHB) que contiene una forma de DNA circular en doble espiral.

PALABRAS CLAVE: Hepatitis viral; Hepatitis B; Vacuna Anti-hepatitis B.

KEY WORDS: Viral hepatitis; Hepatitis B; Anti-hepatitis B Vaccine.

La enfermedad se transmite parenteralmente por medio de inoculación de sangre o derivados de ésta que contengan el virus o por medio del contacto personal íntimo con una persona virus-positiva. La hepatitis B se cronifica en cierto número de casos y puede llevar a cirrosis y carcinoma hepatocelular primario. La sangre y ciertas secreciones corporales de individuos con una infección crónica o persistente pueden permanecer infecciosas durante muchos años. El virus de la hepatitis B no puede desarrollarse en cultivos celulares, pero el genoma completo se ha secuenciado y clonado en células bacterianas y eucarióticas².

El virus de la hepatitis D (VHD), inicialmente denominado agente δ (Fig. 1), es un virus defectuoso donde la expresión requiere la existencia obligatoria del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (Ag HB_s).

La evolución de una infección por VHD está indefectiblemente ligada a una infección simultánea de VHB. La coinfección por el VHD de una infección agu-

da por el VHB aumenta el riesgo de infección crónica por el VHB. Presentan alto riesgo de infección los pacientes politransfundidos, el abuso de drogas intravenosas y contactos sexuales diversos³.

Los agentes de la hepatitis no-A no-B no se han identificado. Es posible distinguir entre una forma de hepatitis no-A no-B transmitida principalmente por vía parenteral y la transmitida oralmente. La última se ha visto que está producida por un picornavirus que, sin embargo, no tiene ninguna relación antigénica con el virus de la hepatitis A⁴.

La dificultad en diferenciar estas enfermedades por medios clínicos y bioquímicos nos induce a examinar en forma conjunta las distintas hepatitis virales, para luego abordar la vacuna anti-hepatitis B (cfr. Cuadro 1).

El virus de la hepatitis A (HAV) posee las características de un enterovirus típico y es un miembro de la familia de los picornavirus. Las partículas maduras miden aproximadamente 27 nm de diámetro, tienen una simetría cúbica y están compuestas por 32 capsómeros. Estas partículas tienen una densidad de 1,33-1,34 g/cm³ y un coeficiente de sedimentación de 156-160 S. La cubierta del virus está compuesta por cuatro polipéptidos distintos con pesos moleculares relativos de 30000-33000 (VP1), 24000-27000 (VP2), 21000-23000 (VP3) y 7000-14000 (VP4). El genoma consiste en un único segmento de RNA de espiral única que sedimenta a 32-36 S, tiene una densidad de 1,64 g/cm³ y un peso molecular relativo de 2,25 x 10⁶ cuando se mide en condiciones sin desnaturalización. El genoma contiene una secuencia de 40-8- nucleótidos de poli(A) y es capaz de infectar cultivos celulares. El HAV es algo más termoestable que otros enterovirus pero se puede inactivar com-

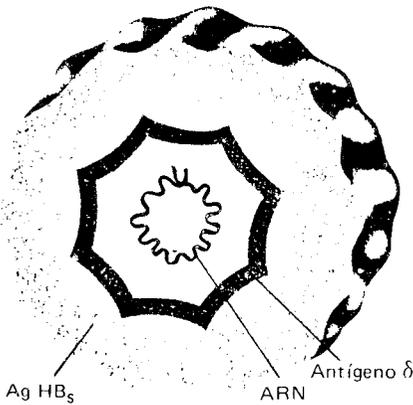


Figura 1. Representación esquemática del agente δ (virus de la Hepatitis D). El ARN ocupa el centro de la partícula, así como el antígeno δ , en tanto que la envoltura está constituida por el antígeno de superficie del virus responsable de la Hepatitis B (Ag HB_s). El tamaño de la partícula es de 35 a 35 nm.

Hepatitis A	
HA	
HAV	(VHA) Virus de la hepatitis A
HA Ag	(Ag HA) Antígeno del virus de la hepatitis A
Anti-HAV	(Ac-anti HA) Anticuerpo al virus de la hepatitis A, sin diferenciación del tipo de inmunoglobulina
Anti-HAV IgG	(Ac-anti HA IgG) Anticuerpo al virus de la hepatitis A del tipo IgG
Anti-HAV IgM	(Ac-anti HA IgM) Anticuerpo al virus de la hepatitis A del tipo IgM
Anti-HAV IgA	(Ac-anti HA IgA) Anticuerpo al virus de la hepatitis A del tipo IgA
Hepatitis B	
HB	
HBV	(VHB) Virus de la hepatitis B
HB _s Ag	(Ag HB _s) Antígeno de superficie de la hepatitis B
HB _e Ag	(Ag HB _e) Antígeno core de la hepatitis B ("core" o nucleocápside)
HB _c Ag	(AgHB _e) Antígeno "e" de la hepatitis B (producido por la degradación del Ag HB _e)
Anti-HB _s	(Ac anti-HB _s) Anticuerpo al antígeno de superficie de la hepatitis B
Anti-HB _e	(Ac anti-HB _e) Anticuerpo al antígeno core de la hepatitis B, sin diferenciación del tipo de inmunoglobulina
Anti-HB _c IgG	(Ac anti-HB _c IgG) Anticuerpo al antígeno core de la hepatitis B del tipo IgG
Anti-HB _c IgM	(Ac anti-HB _c IgM) Anticuerpo al antígeno core de la hepatitis B del tipo IgM
Anti-HB _e	(Ac anti-HB _e) Anticuerpo al antígeno e de la hepatitis B
Hepatitis D	
HD	
HBVδ	(VHB) Virus de la hepatitis B (partícula de Dane)
HDB	(VHD) Virus de la hepatitis D (o agente δ)
HD Ag	(Ag δ) Antígeno situado en la partícula central del HDV
Anti-HD	(Ac anti-δ) Anticuerpo al antígeno δ

Cuadro 1. Designación (abreviaturas) de antígenos y anticuerpos correspondientes a los virus de la hepatitis.

pletamente hirviendo durante 5 minutos. A 60 °C sólo hay inactivación parcial e incluso la exposición a 60 °C durante 10 horas puede que no origine inactivación completa del virus. La inactivación con concentraciones bajas de formaldehído (1:4000) ha sido eficaz con preparados de virus parcialmente purificados, pero si el formaldehído se utiliza para descontaminación se tienen que aplicar concentraciones más altas. El tratamiento con cloro (3 mg/l durante 30 minutos) de materiales conteniendo HAV los inactiva completamente^{5,6}.

El *virus de la hepatitis B* (HBV) tiene un diámetro de 42 nm, la eliminación de su antígeno de superficie (HB_s Ag) descubre una partícula core vital (HB_c Ag) y un genoma, forma inusual de DNA circular, que tiene cerca de 3.200 pares de bases en su forma total de doble hélice. Existe un tercer antígeno, el *e* (HB_e Ag), del cual pueden existir tres tipos y también está asociada al virus una DNA polimerasa DNA-dependiente. El virus afecta sólo al hombre y a otros pocos primates superiores. Su compleja biología molecular presenta las consecuencias de la infección de una célula sensible con sus manifestaciones clásicas, pero es de difícil interpretación el modo de replicación del DNA viral, la expresión de sus genes y la morfogénesis viral. El hepatocito es específicamente la célula diana⁷.

En el caso del *virus de la hepatitis D* (VHD), la partícula δ fue identificada a partir de sangre de chimpancé y de humanos infectados. Si no se utilizan detergentes, el material antigénico no se detecta luego de ultracentrifugación, lo cual indica que está localizado en el interior de otra partícula⁸.

Mide de 35 a 37 nm y lleva los determinantes del antígeno HB_s. Su densidad (1,25 g/cm³ en un gradiente de cloruro

de cesio) y su tamaño son intermedios entre los de la partícula HBV completa (partícula de Dane de 42 nm) y las partículas HBV defectuosas (partículas de 22 nm portadoras solamente del Ag HB_s). El antígeno δ fue purificado a partir de hígado y luego de suero humano; está compuesto por una proteína de $6,8 \times 10^4$ daltons⁹.

Fue posible aislar una molécula de RNA a partir de partículas asociadas al antígeno RNA, luego de desnaturalización con glioxal; el tamaño del RNA se estimó en 1,75 kilobases, dimensión superior a la de los viroides y mucho más pequeña que la de los virus RNA conocidos. Este RNA es diferente al RNA ribosomal (18 S y 28 S) que puede ser liberado al suero con el antígeno δ , a partir de hepatocitos necrosados. La asociación de RNA al antígeno en el interior de partículas sugiere que depende del genoma del virus D y que el antígeno δ es una nucleoproteína. La situación del RNA en el interior de la partícula previene su degradación luego de la eliminación de la envoltura por detergentes o congelación y descongelación del suero, de modo alternativo. Recientemente ha sido posible sintetizar el ADN complementario (ADN c) a partir de ARN sérico y clonarlo en un plásmido. Esto permitirá el análisis de la secuencia en nucleótidos del genoma viral¹⁰.

HEPATITIS B

Luego de analizar este panorama relacionado con las distintas hepatitis virales, nos referiremos en especial a la hepatitis B y a su prevención

La hepatitis B es un importante problema de salud pública y puede producir infecciones activas crónicas o persistentes. De las infecciones agudas sólo se dispone de información fiable sobre la inci-

dencia y tendencia a largo plazo, en unos pocos países desarrollados. El grado de infección crónica por HBV se ha reconocido totalmente hace sólo unos pocos años, ya que están disponibles los medios de diagnóstico para HB_s Ag. Estas infecciones ahora se clasifican en: a) portadores con sólo una enfermedad mínima o no detectable (portadores "sanos"), b) hepatitis persistente con enfermedad estable y c) hepatitis crónica activa con enfermedad en evolución.

Modo de propagación

Tradicionalmente, la contaminación por hepatitis B ha sido un factor de alto riesgo en las transfusiones sanguíneas en el uso de jeringas no descartables y en la exposición a la sangre infectada, motivos por los que aparecen tasas altas de infección en ciertos grupos ocupacionales (bioquímicos, hematólogos, odontólogos, personal y pacientes de las unidades de diálisis). La transmisión puede acontecer en el ámbito familiar, sucediendo como resultado de una inoculación percutánea accidental. El HBV se ha detectado en variedad de secreciones y excreciones corporales, incluyendo la saliva, el semen y flujo vaginal, por lo que la infección puede transmitirse por el beso o el contacto sexual. No parece que la hepatitis B se transmita por vía fecal-oral y la orina probablemente no es infecciosa a menos que esté contaminada con sangre. Madres portadoras de HBV (HB_e Ag positivas) pueden infectar al feto en el útero, pero esto raramente ocurre y parecería que la mayoría de las infecciones suceden en el nacimiento como resultado de la extraversión de sangre materna a la circulación del bebé, ingestión o inoculación accidental de sangre.

Prevención

Hasta hace poco la prevención de he-

patitis B se ha limitado a reducir la incidencia de la enfermedad empleando medidas higiénicas, selección de la población donante de sangre, análisis de HB_s Ag en donantes, con rechazo de los dadores positivos y administración de inmunoglobulina a individuos que sufrían exposición percutánea a sangre u otros fluidos corporales con HBV. En la actualidad se dispone de la Inmunoglobulina específica contra la hepatitis B (HB Ig) y se han desarrollado vacunas para inmunización activa, que es el tema central que nos ocupa.

Inmunización pasiva

Los ensayos con un "pool" de inmunoglobulina humana normal para la prevención de hepatitis B han dado resultados poco consistentes y generalmente negativos, debido a las cantidades variables y generalmente bajas de anti-HB_s en estos preparados. Por el contrario, la inmunoglobulina específica contra la hepatitis B (HB Ig), con títulos anti-HB_s altos, ha demostrado ser eficaz en la profilaxis pre y post-exposición. Es una solución estéril de inmunoglobulina (10-18% de proteína) preparada por fraccionamiento alcohólico en frío de plasma venoso purificado, obtenido de individuos con títulos elevados de anticuerpos contra el antígeno de superficie de la hepatitis B (anti-HB_s). El preparado se estabiliza con glicina 0,3 M y contiene etilmercuriotiosalicilato de sodio (1:10.000) como preservativo. El pH de la solución es de $6,8 \pm 0,4$. La potencia de anti-HB_s (anticuerpos) se refiere a un patrón (Bureau of Biologics, FDA) de Inmunoglobulina para hepatitis B (U.S.P. XXI Ed.).

La principal indicación para la utilización de inmunoglobulina contra la hepatitis B es la profilaxis post-exposición, como por ejemplo después de inoculacio-

nes accidentales con materiales positivos al HBV o para madres portadores de HBV. Es necesario subrayar que la inmunoglobulina hepatitis B se debe dar tan pronto como sea posible después de una inoculación accidental (idealmente dentro de las 6 hs y preferiblemente no más allá de las 48 hs) ya que la eficiencia de la HB Ig para prevenir la enfermedad y el desarrollo de un estado portador disminuye rápidamente con el tiempo. Su administración al nacimiento y repetidamente durante el primer año de vida ha demostrado prevenir el desarrollo del estado portador persistente en niños nacidos de madres portadoras de HBV hasta un 80% de los niños inoculados, aunque la infección todavía aparece en muchos casos (reducción de los límites de tasas de infección entre 20 y 40%). Estos resultados podrían mejorarse aún más en el futuro por el uso de inmunización pasiva-activa de los recién nacidos.

El empleo generalizado de inmunoglobulina de hepatitis B para la profilaxis de larga duración no puede recomendarse debido a su limitada disponibilidad y elevado riesgo de complicaciones a largo plazo por su uso repetido.

Inmunización activa. Vacunas anti-hepatitis B. Vacuna de virus inactivado de Hepatitis B (U.S.P. XXI)

La imposibilidad de crecimiento del virus de la hepatitis B en cultivos celulares ha impedido el desarrollo de vacunas convencionales, por lo que la búsqueda se ha dirigido hacia otros preparados para la inmunización activa, incluyendo el uso del antígeno de superficie inactivado de la hepatitis B purificado procedente de plasma de portadores humanos asintomáticos. Ya que el antígeno de superficie de la hepatitis B conduce a la producción de anticuerpos de superficie protectores,

como se ha demostrado en exámenes serológicos y en estudios de transmisión experimental, se han desarrollado vacunas con partículas de antígeno de superficie esférica de 22 nm. Aunque generalmente se acepta que los preparados de partículas de 22 nm, cuando son puros, están libres de ácido nucleico y por lo tanto no son infecciones, el hecho de que su origen sea el plasma humano obtenido de personas infectadas con virus de hepatitis B significa que se debe emplear un cuidado extremo para asegurar la ausencia de todo tipo de material contaminante peligroso, incluyendo los componentes del huésped.

La seguridad, inmunogenicidad y alta eficacia protectora de estos preparados se ha demostrado por ensayos de dobleciego, randomizado y controlados con placebo en varias poblaciones susceptibles, entre el personal y pacientes de unidades de hemodiálisis y el personal sanitario. La vacuna inscrita en la U.S.P. XXI es de este tipo: "suspensión de partículas del antígeno de superficie de hepatitis B (HB_s Ag) aislado del plasma de portadores de HB_s Ag..."

Si bien es una vacuna que proporciona protección frente a la infección con virus de la hepatitis B, tiene también varias desventajas: a) se necesitan grandes cantidades de plasma con título alto de HB_s Ag (a menudo antígeno e +) procedente de portadores asintomáticos persistentes y no se puede caracterizar a cada donante portador sobre una base individual, b) puede ser difícil asegurar suministros a largo plazo de plasma adecuado, c) para la producción de la vacuna se necesitan medios de represión del virus vivo, d) el proceso de fabricación es muy prolongado (65 semanas) y durante el mismo deben eliminarse posibles agentes extraños y otros contaminantes, e) se ne-

cesita una valoración estricta de la seguridad de la vacuna y f) es indispensable el "test" de infectividad residual de HBV en chimpancés susceptibles (el Comité de Expertos sobre Estandarización Biológica de la OMS lo recomienda y la U.S.P. XXI da los ensayos principales para productos biológicos y por radioinmunoensayo determina la potencia en suero de animales).

VACUNAS POLIPEPTIDICAS

Polipéptidos aislados

Para solucionar algunos de estos problemas se han preparado y ensayado en cuanto a seguridad, inmunogenicidad y eficacia protectora en chimpancés susceptibles, una segunda generación de vacunas polipeptídicas de la hepatitis B, asociadas a un polipéptido no glucosilado con PM relativo de 25.000 y a un polipéptido glucosilado con PM relativo de 30.000.

Polipéptidos agregados

Las micelas proteicas son agregados de polipéptidos, preparados de tal forma que las zonas hidrofóbicas son secuestradas en el interior de los agregados con el residuo hidrofílico en la superficie, por lo que las micelas son hidrosolubles. La comparación en ratones de la inmunogenicidad de las micelas con la vacuna de 22 nm demostró que, a todas las dosis comprobadas, las micelas produjeron una respuesta de anticuerpos de superficie protectores mayor que las partículas intactas. Los ensayos de seguridad y eficacia en primates no humanos se han completado satisfactoriamente.

La difusión de la vacuna contra hepatitis B ha estado considerablemente frenada por la creencia que suscita en el público la existencia potencial de contaminantes (microorganismos, virus, SIDA,

etc.) eventualmente capaces de resistir los procesos de purificación y de inactivación, pero está demostrado que las vacunas obtenidas a partir de plasma que responde a las normas de la OMS, son de una inocuidad total.

VACUNAS PREPARADAS POR RECOMBINACION DE DNA

La realización de experiencias con DNA recombinante y clonación molecular han permitido desarrollar nuevas técnicas que permiten transferir a microorganismos genes de cualquier origen. Estas técnicas de ingeniería genética deben guardar normas estrictas, como las recomendadas por la OMS para la vacuna anti-hepatitis B preparada en levaduras por estas técnicas y que resumimos a continuación¹³:

Se suministran los principios teóricos de la producción de vacunas por los métodos de recombinación de DNA, aconsejando efectuar una descripción detallada de la estrategia de elaboración de la vacuna. Deberá tenerse la certeza que el HB_s Ag obtenido posee las características requeridas, insistiendo en el rigor de la caracterización e identificación por métodos químicos y biológicos del producto obtenido de la levadura. La más ligera valoración del orden estructural, biológico o inmunológico entre el antígeno natural y el producido deberá ser estudiado detenidamente. Las alteraciones pueden producirse a nivel del gen, a nivel post-traduccional y aún en el curso de la purificación. Estas variaciones entre lotes de producción pueden ser atribuidas a la inestabilidad del plásmido o a modificaciones de la levadura durante la fermentación. Es necesario ejercer un riguroso control para evitar contaminaciones bacterianas durante la fermentación. La vacuna debe reunir condiciones de pureza

estricta por las razones siguientes:

a) impurezas (sustancias indeseables) del gen, pueden co-expresarse al mismo tiempo que el HB_s Ag; la presencia de tales sustancias puede dar lugar a la iniciación de la transcripción a nivel de varios sitios sobre el plásmido o a una modificación del plásmido en el curso de la fermentación que, al afectar el proceso de transcripción de iniciación o terminación, puede favorecer la expresión de otros genes del plásmido

b) la presencia de compuestos generados por la célula huésped en el producto, que no se encuentran en la vacuna obtenida a partir del plasma, puede tener consecuencias nefastas cuando se administra la vacuna a humanos

c) las contaminaciones específicas del producto final pueden provenir de agentes utilizados en el proceso de purificación (anticuerpos, columnas)

Estrategia para la clonación y la expresión del gen

1) La célula huésped y los vectores de expresión utilizados para la producción deben ser descriptos en detalle. Esta caracterización contendrá precisiones sobre la construcción, la genética y la estructura de los vectores de expresión, así como el origen y la identificación del gen que debe ser clonado.

2) Deberá proporcionarse la secuencia de la cadena de nucleótidos del gen y de regiones del plásmido (o de otros vectores utilizados en la producción). El mapa de restricción del plásmido en el cual se inserta el gen puede también formar parte de las informaciones útiles.

3) Deben ser descriptos en detalle los procedimientos utilizados para favorecer y controlar la expresión de los genes clonados en la célula huésped.

4) Al terminar la fermentación debe

ser evaluada en cada lote la proporción de células que posee el plásmido.

En este memorando de expertos de la OMS también se dan las recomendaciones para los procedimientos de fabricación industrial y se notifica que está en curso de producción la vacuna contra hepatitis B obtenida por la expresión de HB_s Ag en la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) por la técnica de Valenzuela¹⁴ de recombinación del DNA¹⁵⁻²¹. Participaron de la reunión representantes de siete laboratorios que han seguido el método de Valenzuela, con modificaciones en distintos casos y han comunicado progresos e inconvenientes a este grupo de especialistas, concluyendo que la capacidad inmunogénica en animales de experimentación de la vacuna obtenida a partir de levadura es similar a la preparada a partir de plasma. Esta nueva vacuna es objeto de estudios clínicos en varios países.

El memorando termina con las siguientes recomendaciones¹³:

1. Utilizar anticuerpos monoclonales en la identificación de los epítopes de HB_s Ag responsables de la protección y para estandarizar el contenido de esos epítopes de vacunas obtenidas por recombinación de DNA. En los EE.UU., la Food and Drug Administration examina el valor de otros anticuerpos monoclonales que tengan aptitud de conferir protección pasiva al chimpancé.

2. Deberá crearse un grupo permanente de expertos a nivel internacional para aconsejar a las autoridades sanitarias, a solicitud de éstas, sobre el empleo de nuevas vacunas contra la hepatitis en ensayos clínicos y poblacionales. Este grupo tendrá igualmente un rol consultivo y colaborará estrechamente con los fabricantes en la planificación y ejecu-

ción de estudios clínicos y ensayos sobre el terreno, reservándose la aprobación del Comité del Secretariado (OMS) por la investigación en las que intervienen humanos (SCRIHS).

3. Las normas provisionales de la OMS, relacionadas a la vacuna antihepatitis B producidas por los métodos de recombinación de DNA, deberán ser examinadas en lo posible por el Comité de expertos en Estandarización Biológica de la OMS.

4. Un grupo internacional de expertos deberá reunirse para establecer métodos estandarizados suficientemente específicos y sensibles como para permitir la detección de ácidos nucleicos en los productos biológicos y para establecer sustancias de referencia a ese fin.

5. Las vacunas anti-hepatitis B preparadas en levaduras deberán ser objeto de estudios comparativos. Los fabricantes fueron invitados a suministrar a la OMS muestras de un máximo de tres lotes del producto sin fraccionar (HB_s Ag purificado en solución acuosa) y de un máximo de tres lotes de la vacuna final, y quienes participaron en la reunión han aceptado suministrar muestras de sus vacunas. Toda información sobre productos, comunicada a la OMS, será tratada confidencialmente. La OMS suministra estas muestras, luego de haberle dado un número de código, a los siguientes organismos: Research and Review Office y Food and Drug Administration de EE. UU. y al National Institute of Biological Standards and Control, de Inglaterra, que procederán a los estudios experimentales, informando: a) el título in vitro del antígeno, b) las pruebas de especificación de epítopes, por ejemplo con una serie de anticuerpos monoclonales anti HB_s Ag, c) los estudios inmunogénicos en ratas, por comparación con la vacuna de referencia contra la hepatitis B pro-

puesta por la OMS con la búsqueda, en el inmunoensayo de la rata, de anticuerpos dirigidos contra los epítopes + a + específicos (de síntesis) y d) la determinación de características fisicoquímicas y moleculares de los productos.

Los resultados de estos trabajos serán suministrados a la OMS, bajo su número de código, por el laboratorio competente. La OMS informará a cada fabricante de los resultados de los ensayos realizados en las muestras, acompañados de los resultados obtenidos con las otras muestras designadas por su número de código.

La cantidad mínima de producto necesario para estos ensayos es de a) 2 x 20 ml de cada vacuna sin fraccionar con una concentración superior o igual a 50-100 µg de proteína (de HB_s Ag) por ml y b) 2 x 20 ml de cada vacuna final.

Todas las pruebas aplicadas a estas vacunas tienen por objeto determinar su inocuidad y eficacia. Son mucho más estrictos los criterios propuestos por este grupo internacional de especialistas para la admisión de nuevas vacunas que los aplicados a otras vacunas de virus, reflejando en ellos los nuevos conocimientos adquiridos en el campo de la inmunología y tendiendo a lograr una vacuna que confiera un alto grado de inmunidad de larga duración sin producir reacciones nocivas de ninguna clase. Sin embargo la determinación exacta del riesgo resulta difícil y, en el mejor de los casos, sólo puede ser aproximada, ya que suele requerirse la observación de centenares de miles de personas vacunadas para descubrir complicaciones más o menos graves. El examen de los riesgos que presenta el empleo de esta vacuna debe extenderse también a los peligros hipotéticos. La rápida evolución de la virología, con sus técnicas de ingeniería genética, ocasiona

problemas hasta ahora no previstos, que no pueden definirse ni discutirse mientras no se presenten. Sin embargo, hay que tener en cuenta la posibilidad de complicaciones inesperadas y debe establecerse un sistema de vigilancia que permita el descubrimiento precoz de esas complicaciones.

En estas cuestiones el profesional farmacéutico deberá desempeñar un papel más importante que en el pasado, mediante la presentación de juicios ponderados basados en los hechos observados en su oficina de farmacia y que facilitarán la adopción de medidas tendientes a lograr vacunas ideales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Gravelle, C.R., C.L. Hornbeck, J.E. Maynard, C.A. Schable, E.H. Cook y D.W. Bradley (1975) *J. Infect. Dis.* 131: 167-71
2. Barker, L.F., J.E. Maynard, R.H. Purcell, J.H. Hoofnagle, K.R. Berquist y W.T. London (1975) *Am. J. Med. Sci.* 270: 189-95
3. Jacobson, I.M. y J.L. Dienstag (1984) *Gastroenterology* 86: 1614-7
4. Hollinger, F.B., G.L. Gitnick, R.D. Aach, W. Szmuness, J.W. Mosley, C.E. Stevens, R.L. Peters, J.M. Weiner, J.B. Werch y J.J. Lander (1978) *Intervirology* 10: 60-8
5. Hollinger, F.B., M. Morrison, R. Chairez y G.R. Dreesman (1975) *J. Immunol. Methods* 8: 67-84
6. Skinhoj, P., F. Mikkelsen y F.B. Hollinger (1977) *Am. J. Epidemiol.* 105: 140-7
7. Gerin, J.L. y J.W.K. Shih (1978) "Viral Hepatitis", Franklin Institute Press, Philadelphia, págs. 147-58
8. Rizzetto, M. (1983) *Hepatology* 3: 729-37
9. Rizzetto, M., B. Hoyer, M.G. Canese, J.W.K. Shih, B. Purcell y J.L. Gerin (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 6124-8
10. Bréchet, C. (1985) *Médecine-Sciences* 1: 66-8
11. Informe de un Grupo Científico de la OMS (1982) *Münich Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé* 60: 661-91
12. *The United States Pharmacopœia XXI Ed.* (1985) United States Pharmacopœial Conventio, Inc. Rockville, pág. 483
13. Memorando de una reunión de Expertos de la OMS (1985) *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé* 63: 689-94
14. Valenzuela, P., A. Medina, W.J. Rutter, G. Ammerer y B.D. Hall (1982) *Nature* 298: 347-50
15. Galibert, F., E. Mandart, F. Fitoussi, P. Tiollais y P. Charnay (1979) *Nature* 281: 646-50
16. Burrell, C.J., P. Mackay, P.J. Greenway, P.H. Hofschneider y K. Murray (1979) *Nature* 279: 43-7
17. Sninsky, J.J., A. Siddiqui, W.S. Robinson y S.N. Cohen (1979) *Nature* 279: 346-8
18. Edman, J.C., R.A. Hallowell, P. Valenzuela, H.M. Goodman y W.J. Rutter (1981) *Nature* 291: 503-6
19. Petes, P.D.A. (1980) *Rev. Biochem.* 49: 845-76
20. Maxman, A.M. y W. Gilbert (1980) *Meth. Enzym.* 65: 490-565
21. Cohen, B.J. y J.E. Richmond (1982) *Nature* 296: 677-8