

**INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “PEDRO KOURÍ”
HOSPITAL**

**ENSAYOS CLÍNICOS PARA EVALUAR
CANDIDATOS VACUNALES CONTRA EL CÓLERA**

**Tesis presentada en opción al grado científico de
Doctor en Ciencias Médicas**

Autor:

Dr. Manuel Díaz Jidy

La Habana

2012

**INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “PEDRO KOURÍ”
HOSPITAL**

**ENSAYOS CLÍNICOS PARA EVALUAR
CANDIDATOS VACUNALES CONTRA EL CÓLERA**

**Tesis presentada en opción al grado científico de
Doctor en Ciencias Médicas**

Autor:

Dr. Manuel Díaz Jidy

Asesores:

Lic. Luis Guillermo García Imia, Dr.C.

Prof. Tit. Lic. María Espino Hernández, Dr.C.

La Habana

2012

DEDICATORIA

A la memoria de mis padres

A mi esposa e hijas

AGRADECIMIENTOS

A mi esposa, por exigirme día a día la elaboración y conclusión de este proyecto.

A mis hijas, por su tiempo despojado.

Al , Dr. Jorge Pérez Ávila por permitirme y facilitarme la ejecución de la tesis.

Al Dr. Antonio Pérez Rodríguez, por el esencial aporte metodológico y científico.

A la Dra. Nereyda Cantelar De Francisco, por su incondicional ayuda.

Al Dr. Pedro Más Bermejo, por su aliento y guía durante todo el trayecto.

A la Dra. Hilda García Sánchez, por su apoyo científico y sus atinados consejos.

Al Dr. Rodrigo Valera Fernández, por su colaboración.

A la Dra María Eugenia Toledo por su acertada revisión crítica.

Al Licenciado Armando Martínez, por su contribución efectiva e inmediata.

A la Dra. María Espino Hernández, por su tiempo, paciencia y empeño.

Al Dr. Luis Guillermo García Imia por su invaluable y dedicada contribución.

A la Licenciada Mayelin Mirabal por su contribución estadística.

Gracias a todos mis compañeros que de una forma u otra han colaborado en este empeño.

SÍNTESIS

En la actualidad no existe una vacuna efectiva contra el cólera ni un modelo animal que reproduzca por sí solo todos los síntomas y signos de la enfermedad, por lo que para el desarrollo y producción a escala industrial de un candidato vacunal cubano, fue necesario realizar estudios clínicos en humanos. Se realizaron durante seis años, en el periodo comprendido entre junio de 1997 y julio del 2003, 12 ensayos clínicos con la participación de 174 voluntarios sanos en los que se evaluaron un conjunto de cepas de *V. cholerae* atenuadas genéticamente, como candidatos a una vacuna contra el cólera. Como resultado, se seleccionó la cepa atenuada 638 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa como la candidata más promisoría. Esta cepa fue sometida a estudios clínicos de reto en voluntarios sanos, primero ante una cepa modificada genéticamente pero no suficientemente atenuada y, posteriormente, ante una cepa virulenta de *V. cholerae*. En ambos estudios, la cepa 638 evidenció una protección contra las diarreas. Estos resultados propiciaron el escalado tecnológico y farmacéutico del candidato vacunal y la obtención del registro del producto cubano contra esta enfermedad, denominado vax-COLER. En el Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí (IPK) se pueden realizar validaciones clínicas de vacunas que requieren ensayos clínicos complejos y costosos.

ÍNDICE

Pág.		
	1. INTRODUCCIÓN-----	1
--		
	1.1 Problema-----	5
--		
	1.2 Hipótesis-----	5
--		
	1.3 Objetivos-----	5
--		5
	1.3.1 Objetivos específicos-----	
-		
	1.4 Novedad científica-----	6
--		
	1.5 Valor teórico -----	7
--		
	1.6 Valor práctico-----	7
--		
	2. INFORMACION PREVIA-----	8
--		
	2.1 Cólera. Definición -----	8
--		
	2.2 Antecedentes históricos-----	9
-		
	2.3 Agente causal del cólera-----	11
-		12
	2.3.1. Patogenia-----	
-		
	2.4 Epidemiología-----	12
-		

2.5 Manifestaciones clínicas del cólera-----	16
--	
2.6 Tratamiento-----	17
-	
2.7 Vacunas contra cólera-----	20
--	
2.8. Principios éticos y buenas prácticas clínicas-----	25
--	
3. MATERIALES Y MÉTODOS-----	29
--	
3.1 Descripción general de la investigación-----	29
-	
3.2 Sitio del estudio-----	29
--	
3.3 Cepas evaluadas en el estudio-----	30
-	31
3.3.1. Cepa control utilizada en el ensayo-----	
-	
3.4 Primera fase: Evaluación y selección de cepas atenuadas-----	32
-	33
3.4.1 Diseño de los ensayos clínicos-----	35
--	36
3.4.2 Preparación y administración del inóculo-----	38
--	
3.4.3 Principios éticos y buenas prácticas clínicas-----	
-	
3.4.3.1 Criterios de inclusión-----	
--	
3.4.3.2 Criterios de exclusión-----	39
--	40
3.4.3.3 Criterios de salida del estudio-----	40
-	43
3.4.4 Evaluación de la reactogenicidad de las cepas-----	44

-		45
	3.4.5 Seguimiento clínico de los voluntarios-----	45
--		46
	3.4.6 Tratamiento de los eventos adversos-----	46
--		47
	3.4.6.1 Tratamiento concomitante-----	47
--		
	3.4.7 Evaluación de la dinámica de excreción-----	
--		
	3.4.8 Evaluación de la inmunogenicidad de las cepas-----	
-		
	3.4.9 Apertura de los códigos-----	
--		
	3.4.10. Variables evaluadas para cumplir los objetivos-----	
-		
	3.4.11. Procesamiento estadístico-----	
--		
	3.5 Segunda fase de los estudios clínicos-----	48
--		48
	3.5.1 Estudio de reto atenuado-----	49
--		50
	3.5.1.1 Diseño-----	51
-		51
	3.5.1.2 Preparación y administración del inóculo-----	52
--		53
	3.5.1.3. Variables evaluadas para cumplir los objetivos-----	53
--		55
	3.5.1.4 Procesamiento estadístico-----	
--		
	3.5.2 Estudio de reto con cepa virulenta-----	
-		
	3.5.2.1 Diseño-----	
-		

3.5.2.2 Preparación y administración del inóculo-----	
--	
3.5.2.3 Procesamiento estadístico-----	
--	
4. RESULTADOS-----	56
--	
4.1 Estudios para la evaluación de las cepas-----	56
--	56
4.1.1 <i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 638 a diferentes concentraciones-----	60
--	61
4.1.2 <i>V. cholerae</i> O1 El Tor Inaba JBK70-----	62
--	64
4.1.3 <i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 81-----	65
--	66
4.1.4 <i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 638T-----	
--	
4.1.5 <i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 638-----	
--	
4.1.6 <i>V. cholerae</i> O1 El Tor Inaba 1333-----	
--	
4.1.7 Resultados globales de la evaluación de las cepas-----	
--	
4.2 Ensayos clínicos de reto-----	68
--	68
4.2.1 Estudio con una cepa atenuada de <i>V. cholerae</i> -----	69
--	
4.2.2 Estudio de reto con una cepa virulenta de <i>V. cholerae</i> -----	
--	
5. DISCUSIÓN-----	75
--	
5.1 Primera fase. Estudios clínicos para la evaluación de cepas atenuadas----	75
--	
5.2 Segunda fase. Estudios de reto-----	78

--	78
5.2.1 Estudio de reto con cepa atenuada-----	79
-	
5.2.2 Estudio de reto con una cepa virulenta-----	
--	
6. CONCLUSIONES-----	87
-	
7. RECOMENDACIONES-----	88
-	
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	89
--	
PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DEL AUTOR SOBRE EL TEMA DE LA TESIS-----	108
--	
EVENTOS Y RESULTADOS RELEVANTES DEL TRABAJO-----	110
-	
ANEXOS-----	112
--	

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AMP_c: Adenosin monofosfato cíclico.

BPC: Buenas prácticas clínicas.

CE: Comités de ética

CECMED: Centro para el Control de la Calidad de los Medicamentos.

CENCEC: Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos

CENIC: Centro Nacional de Investigaciones Científicas.

CNSB: Centro Nacional de Seguridad Biológica.

CT: (Siglas en inglés) toxina del cólera.

CTA₁: (Siglas en inglés) Subunidad A₁ de la toxina del cólera.

CTA₂: (Siglas en inglés) Subunidad A₂ de la toxina del cólera.

CVD: (Siglas en inglés) Centro de Desarrollo de Vacunas

IPK: Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”

LPS: Lipopolisacárido.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OPS: Organización Panamericana de la Salud.

TGO: Transaminasa glutámica oxalacética.

TGP: Transaminasa glutámica pirúvica.

UARB: Unidad de Aislamiento para riesgos biológicos.

UFC: Unidades formadoras de colonias.

VDRL: (Siglas en inglés) Investigación de laboratorio de enfermedad venérea.

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

I. INTRODUCCIÓN

El cólera es causado por *Vibrio cholerae* O1 y O139 y es la más temible enfermedad diarreica epidémica, debido a su severidad (Handa, 2010). Durante la colonización del intestino delgado humano, la bacteria virulenta segrega una potente enterotoxina que causa el cuadro diarreico (Kaper *et al*, 1995; Goldman y Ausiello, 2008). Está presente en los países subdesarrollados estrechamente ligados a la pobreza, al saneamiento deficiente y a la falta de agua potable (OMS, 2010^a).

La actual séptima pandemia de cólera llega a Latinoamérica en 1991 por la costa de Perú, y se propaga como una epidemia explosiva a casi toda América del Sur y Central, y a México, sin embargo, no alcanza a las islas del Caribe (Tauxe *et al*, 1995). En Octubre del 2010 se hace presente en Haití (OMS; 2010^b).

En el informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del año 2010 (OMS, 2011) se reportó 317 534 casos y 7 543 defunciones a nivel mundial, con

aumento del 43% del número de casos y del 52 % de los fallecidos. Este incremento respecto al año anterior se debió a una gran epidemia que comenzó en Haití en Octubre del 2010, luego de haber sufrido este país un devastador terremoto que destruyó su ya ineficiente estructura sanitaria (CDC, 2010^a).

En la actualidad no existe una vacuna efectiva contra el cólera (OMS, 2010^a). Las vacunas parenterales desarrolladas contra la enfermedad están compuestas por toxinas o bacterias inactivadas, y confieren una protección limitada y de corta duración, además, son muy reactogénicas por lo que su uso ya no se recomienda por las autoridades de salud (OMS, 2008; OMS, 2010^a).

En el mundo están disponibles solo dos vacunas orales compuestas por células inactivadas de *V. cholerae*: la Dukoral (WC-rBS) y la Shanchol o mORCVAX con diferentes nombres según el fabricante, (OMS, 2010^a). Ambas vacunas tienen un efecto protector de corta duración y requieren de la administración de dos dosis. No obstante, como son las únicas disponibles, la OMS recomienda su aplicación mientras se llevan a cabo otras actividades higiénicas y sanitarias como el mejoramiento del abastecimiento de agua y el saneamiento ambiental (OMS, 2010^c).

Desde la reaparición del cólera en América, con la epidemia ocurrida en Perú durante 1991 y ante la amenaza de su introducción en Cuba, el Estado Cubano convocó a varios centros científicos del país a que se involucraran en un macroproyecto que investigara el desarrollo de vacunas contra esta enfermedad.

(García, 2010)

El avance del conocimiento de la inmunología de la mucosa, unido a que *V. cholerae* es un microorganismo no invasivo y a que un episodio de cólera es fuertemente inmunizante, favorece el concepto de producir una vacuna viva atenuada de administración oral (Kaper *et al*, 1990; Levine, 1992). Como resultado del proyecto, se han producido en Cuba mediante técnicas de ingeniería genética, más de 30 cepas de *V. cholerae* atenuadas, en estado viable, como candidatas vacunales para la inmunización oral. Estas cepas sufrieron la supresión de los genes del cromosoma bacteriano que codifican para la toxina colérica, lo que atenúa la virulencia de la bacteria y elimina su capacidad para producir el cólera clínico (Benítez *et al*, 1996; Robert *et al*, 1996).

No existe un modelo animal satisfactorio que reproduzca por sí solo, todos los síntomas y signos del cólera, por lo que fue necesario evaluar las cepas atenuadas de *V. cholerae* en voluntarios sanos. Estos estudios clínicos se consideran riesgosos, difíciles y costosos, debido a que es necesario provocar en los humanos la infección experimental de una enfermedad potencialmente grave, aunque perfectamente controlable mediante la rehidratación oral o intravenosa y la administración de antibióticos.

La tasa de mortalidad del cólera en estudios que involucran voluntarios sanos, adecuadamente atendidos como lo informan experimentos de este tipo realizados, sin mayores complicaciones, por diferentes investigadores, es nula

(Levine *et al*, 1988^b; Tacket *et al*, 1995^a; Coster *et al*, 1997; Sack *et al*, 1998; Tacket *et al*, 1999). Estos resultados motivaron el interés de realizar en Cuba ensayos clínicos similares, siguiendo los principios de la ética médica y las buenas prácticas clínicas (OMS, 1993; OPS, 1995).

En Cuba no existe la enfermedad desde el siglo XIX (Delgado, 2006); el último fallecido se notificó en el año 1882 (López, 2007). Por ser la primera vez que se realizaban ensayos clínicos de este tipo en el país y por estar eliminada la enfermedad, fue necesario usar medidas de contención muy rigurosas para evitar la salida al medio ambiente de los microorganismos utilizados.

Los estudios clínicos constituyeron parte de un proyecto nacional (código 00501174) que tenía como objetivo, evaluar cepas atenuadas de *V. cholerae* O1, para seleccionar un candidato vacunal promisorio que pudiera emplearse como ingrediente farmacéutico activo de una vacuna efectiva contra el cólera.

1.1. Problema

En la actualidad, no existe una vacuna efectiva contra el cólera ni un modelo animal que reproduzca por sí solo todos los síntomas y signos de la enfermedad, por lo que es necesario realizar estudios clínicos en voluntarios sanos con cepas atenuadas genéticamente y/o cepas virulentas de *V. cholerae*.

1.2. Hipótesis

La evaluación clínica de los voluntarios sanos inoculados con cepas de *V. cholerae* garantiza la selección de un candidato que puede ser utilizado como ingrediente farmacéutico activo de una vacuna contra la enfermedad.

1.3. Objetivo general

Evaluar en ensayos clínicos piloto controlados, cepas vivas de *V. cholerae* O1, genéticamente atenuadas, como candidatos vacunales contra el cólera.

1.3.1. Objetivos específicos

1. Evaluar mediante ensayos clínicos piloto la reactogenicidad e inmunogenicidad de varias cepas de *V. cholerae* O1, con diferentes niveles de atenuación, para seleccionar candidatos vacunales.
2. Determinar la protección contra la diarrea conferida por el candidato vacunal 638 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa, en voluntarios sanos retados con una cepa atenuada pero aún reactogénica y una cepa virulenta de *V. cholerae* homóloga al candidato en un estudio piloto.
3. Monitorear la excreción de la cepa virulenta en las heces de los voluntarios retados, como indicador indirecto de la protección a la colonización de la mucosa intestinal por la bacteria.

1.4. Novedad científica

Estos son los primeros estudios clínicos piloto realizados en voluntarios sanos, para evaluar cepas de *V. cholerae* vivas atenuadas mediante modificaciones genéticas desarrolladas en Cuba. Estas cepas fueron evaluadas como candidatos vacunales contra el cólera. Estos constituyen los primeros estudios de reto piloto ejecutados en nuestro país para determinar la capacidad protectora contra la diarrea de una cepa candidata vacunal al enfrentarla a una cepa virulenta de *V. cholerae*. Ensayos de reto como los descritos en el presente

trabajo solo se han realizado antes en prestigiosas instalaciones de los Estados Unidos de América y Tailandia.

1.5. Valor teórico

Se documenta cómo se realizaron los primeros ensayos clínicos piloto para evaluar cepas de *V. cholerae*, siguiendo los principios de la ética médica y las buenas prácticas clínicas.

Se incorporaron a la literatura nacional e internacional los aportes científicos derivados de la evaluación de un candidato vacunal contra el cólera.

Se registró el primer candidato vacunal cubano contra el cólera denominado vax-COLER[®].

1.6. Valor práctico

Estos estudios clínicos fueron indispensables para seleccionar una cepa atenuada como candidato con el cual elaborar una vacuna de administración oral contra el cólera, que fuera poco reactogénica e inmunogénica, así como para evaluar su capacidad protectora, previo al desarrollo tecnológico y farmacéutico, como ingrediente activo de dicha vacuna.

Durante la realización de estos ensayos clínicos en el Hospital del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” se aplicaron estrictamente las buenas prácticas clínicas y de bioseguridad, con apego riguroso a la ética médica, para garantizar la salud de los voluntarios y evitar el escape de los microorganismos al medio ambiente.

2. Información previa

2.1 Cólera. Definición

El cólera es una enfermedad diarreica aguda cuyo agente causal es la bacteria *V. cholerae* de los serogrupos O1 y O139 (Sack y Lang, 2004).

Los humanos son los únicos hospederos naturales de la bacteria conocidos hasta el momento, la transmisión directa de persona a persona es poco frecuente (OMS, 2010^a).

El cólera grave es una enfermedad peligrosa, principalmente cuando se manifiesta de manera epidémica pero, afortunadamente, la reposición inmediata de líquidos y las medidas de sostén reducen la alta mortalidad que tradicionalmente se ha descrito en estos casos (CDC, 2011).

Aunque el término cólera se aplica en ocasiones a otras enfermedades diarreicas secretoras con deshidratación grave de causa o no infecciosa, en general suele referirse a la enfermedad causada por *V. cholerae* (Fauci *et al*, 2008).

2.2 Antecedentes históricos

El término cólera tiene orígenes muy antiguos, se deriva del griego que significa "flujo de bilis". Thomas Sydenham en 1817 fue el primero en distinguir el cólera de otras enfermedades diarreicas con lo que comenzó la historia moderna de esta entidad. La enfermedad se ha caracterizado epidemiológicamente por siete pandemias; las primeras seis ocurrieron entre 1817 y 1923, y con mayor probabilidad se debieron a *V. cholerae* O1 biotipo clásico. Se originaron principalmente en Asia, por lo general en la India , con la extensión subsiguiente a Europa y a las Américas. En Italia, en 1854, Filippo Pacini, según Barua (Barua, 1992), publica sus observaciones de la identificación en las heces de víctimas del cólera, de un bacilo encorvado que él acuñó como *V. cholerae*. En 1883, Robert Koch (Koch, 1884) hizo el mismo hallazgo que el realizado antes por Filippo Pacini; no obstante, la historia reconoce a Koch como su descubridor. La transmisión de la enfermedad fue registrada después en los trabajos de John

Snow durante la segunda pandemia que afectó a Londres en 1849 (Mandell *et al*, 2005).

El cólera procede del delta del Ganges, en la India. La epidemia actual es la primera debida al biotipo El Tor. Comienza en Indonesia en 1961, se propaga por toda Asia y desplaza a la cepa clásica endémica en muchas zonas (OMS, 2009). Esta pandemia alcanza a Latinoamérica en enero de 1991 y se propaga como una epidemia explosiva a casi toda América del Sur y Central, y a México. Durante el primer año del brote se declaran unos 400 000 casos y al finalizar el año 1994 se habían reportado más de un millón (Tauxe *et al*, 1995).

La tasa de mortalidad acumulada se sitúa por debajo del 1%, aunque se aproximó a 30% en las primeras comunidades afectadas donde la falta de familiaridad con la enfermedad condujo, al inicio, a la utilización de medidas terapéuticas totalmente ineficaces (Fauci *et al*, 2008).

En octubre de 1992, surge en el sudoeste de la India un brote de cólera clínico de gran escala, el agente causal fue una cepa nueva de *V. cholerae* que no pertenecía al serogrupo O1 ni a ninguno de los otros 137 serogrupos conocidos hasta ese momento. La cepa recibió el nombre de *V. cholerae* O139 Bengala en reconocimiento de su nuevo antígeno somático O139 y a su origen geográfico.

Las manifestaciones clínicas y las características epidemiológicas de la enfermedad causada por la cepa O139 Bengala, son indistinguibles de las causadas por O1. Sin embargo, la inmunidad previa a esta última no confiere

protección contra la primera, por lo que es poco probable que las vacunas que se están desarrollando contra *V. cholerae* O1 sean eficaces contra *V. cholerae* O139. Algunas autoridades consideran que la aparición de *V. cholerae* O139 señala el comienzo de la octava pandemia mundial de cólera. De la misma manera que la cepa O1 El Tor sustituyó el biotipo clásico que la precedió en 1993, la cepa O139 Bengala parece sustituir a la O1 El Tor (Fauci *et al*, 2008); sin embargo, a principios de 1994, la cepa O1 El Tor recupera su predominio en Bangladesh. En la actualidad, predomina aún *V. cholerae* O1 en casi todas las regiones del sudeste asiático; en otras, O139 solo reaparece periódicamente (Nair *et al*, 2006). Con los años, la incidencia del serogrupo O139 ha disminuido en muchas partes de Asia excepto en algunas pequeñas áreas, como en China y Tailandia (OMS, 2010^a).

2.3. Agente causal del cólera

La especie *V. cholerae* está formada por un conjunto de microorganismos clasificados en función de los determinantes de hidrato de carbono, de sus antígenos somáticos O y de los componentes del lipopolisacárido (LPS) de su membrana celular. Se han identificado unos 200 serogrupos que se dividen por su capacidad de aglutinar frente al antisuero del grupo O1, aquellos que no aglutinan se clasifican como serogrupo no-O1. Aunque algunas cepas de *V. cholerae* no-O1 causan brotes esporádicos de enfermedad diarreica, el serogrupo O1 fue, hasta la aparición del serogrupo O139, la causa exclusiva del cólera epidémico (Bhattacharya *et al*, 1993; Murray *et al*, 2006).

Se han definidos dos biotipos de *V. cholerae* O1: Clásico y El Tor, cada uno de los cuales se subdivide en dos serotipos denominados Inaba y Ogawa. Se describe un tercer serotipo denominado Hikojima, pero es muy infrecuente (Shimada *et al*, 1994; Talavera *et al*, 2006).

2.3.1. Patogenia

V.cholerae O1 y O139 causan la enfermedad clínica por la secreción de una enterotoxina que promueve la secreción de fluidos y electrólitos por el intestino delgado. La dosis infecciosa de bacterias varía con el vehículo. Cuando es a través del agua, se necesitan entre 10^3 y 10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) para causar la enfermedad, pero cuando el vehículo es el alimento, se necesitan menos cantidades, entre 10^2 y 10^4 UFC/mL (Brooks *et al*, 2007; Goldman, 2008).

La toxina colérica (CTX) tiene dos subunidades, la A y la B. La subunidad A tiene dos componentes: A1 y A2. La activación de la enzima adenilato ciclasa por la subunidad A1 produce un aumento en la concentración intracelular del monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) que bloquea la absorción de sodio y cloruro por las microvellosidades, y promueve la secreción de cloruro y agua por las criptas de las células. Estos eventos se traducen en la excreción de

deposiciones líquidas con una concentración de electrolitos similar a la del plasma. La subunidad B permite unir la toxina a un receptor específico, el gangliósido GM1 localizado en la superficie de las células del intestino de los humanos y de ciertos mamíferos (Valdés, 2001).

2.4. Epidemiología

El cólera es una enfermedad transmitida por el agua que afecta de tres a cinco millones de personas por año (Waldor *et al*, 2010).

El hábitat natural de *V. cholerae* es el agua de la costa marina y los ríos salobres donde el organismo vive en estrecha vinculación con el plancton y en el cual puede sobrevivir de forma viable pero no cultivable. Los seres humanos se infectan de forma accidental pero, una vez infectados, pueden actuar como vehículos de diseminación de la enfermedad. La ingestión de agua contaminada por las heces humanas infectadas representa la vía más común de adquisición de *V. cholerae*; el consumo de alimentos contaminados en el domicilio, restaurantes o en puestos ambulantes también contribuye a su propagación. No se conoce ningún reservorio animal. La dosis infecciosa es relativamente alta, pero disminuye mucho en sujetos con hipoclorhidria y en los que utilizan antiácidos, o cuando el pH gástrico es neutralizado por alimentos (Fauci *et al*, 2008). Los niños que viven en regiones endémicas son los más afectados, pero cuando la enfermedad invade un área, todos los grupos poblacionales se afectan por igual (Deen *et al*, 2008).

En las zonas endémicas, la enfermedad es más frecuente en los meses de verano y otoño, aunque no se comprende muy bien esta preferencia estacional, puede obedecer a factores ambientales que influyen en la multiplicación de los vibrios o bien a cambios estacionales del comportamiento humano y su contacto con el agua. En las regiones endémicas los niños menores de dos años tienen menos probabilidades de contraer el cólera que los niños de más edad, posiblemente por la inmunidad pasiva adquirida a través de la leche materna (Fauci, *et al* 2008). La susceptibilidad varía entre los individuos y es mayor en las personas del grupo sanguíneo O aunque las causas del fenómeno no están totalmente esclarecidas (Sack y Lang, 2004).

Puesto que *V. cholerae* es sensible a los ácidos gástricos, la hipoclorhidria y la aclorhidria son factores predisponentes (Beers *et al*, 2007).

En el 2008, el número de casos de cólera y el número de países con la enfermedad reportados por la OMS, aumentaron en comparación con el 2007. Se registraron 190 130 casos y 5 134 defunciones para un 2,7% de fallecidos; ello representó un aumento del 7,6% en el número de casos y del 27% de los fallecidos (OMS, 2009). En el informe del 2009, se reportaron 221 226 casos, con un incremento del 16% respecto al año 2008, incluyendo 4 946 muertes con un porcentaje de fallecidos de 2,24% (OMS, 2010^d). En el 2010 la OMS reportó 317 534 casos y 7 543 defunciones a nivel mundial, con un porcentaje de

fallecidos de un 2,38%, este incremento respecto al año anterior se debió a una gran epidemia que comenzó en Haití en Octubre del 2010 (OMS, 2011).

La tendencia global había cambiado durante los pasados 20 años, de una alta incidencia en América en los primeros años de 1990, a una alta incidencia en África con pocos casos reportados en Asia (OMS, 2010^d). El incremento de casos de la epidemia de Haití llevó a que la proporción del número de casos reportados por el continente Africano pasara de más del 90% en 2009 a menos de 50% en el 2010 (OMS, 2011).

El cólera es más común entre la población que habita en regiones subdesarrolladas, afectadas por desastres naturales y otros eventos destructivos que provocan condiciones sanitarias deficientes (OMS, 2009). No es erradicable, pero si controlable (Ryan, 2011). Es una enfermedad de la pobreza, estrechamente ligada al saneamiento deficiente y a la falta de agua potable (Bhattacharya *et al*, 2009; OMS, 2010^d). Fue eliminado de los países industrializados con la administración de agua potable y el mejoramiento de la estructura sanitaria (Seidlein, 2007).

El más reciente ejemplo es el de Haití donde no se había visto el cólera en décadas y donde la combinación de la pobreza, la carencia y la destrucción de la infraestructura sanitaria a causa de un terremoto, propició la aparición de la enfermedad (Siddique *et al*, 2010; Ivers *et al*, 2010).

La primera epidemia de cólera en Haití, después de más de un siglo de ausencia de la enfermedad, se confirma el 21 de Octubre de 2010 por el Laboratorio Nacional de Salud Pública de ese país (CDC, 2010^a), donde se aísla la cepa de *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa (OMS, 2010^b). En otros estudios se encuentra, que dicha cepa, tiene una estrecha relación con las variantes aisladas en Bangladesh en los años 2002 y 2008 (Chen-Shan *et al*, 2010). La cepa de *V. cholerae* de esta epidemia es sensible a las tetraciclinas, ciprofloxacina y kanamicina, pero resistente al trimetoprim/sulfametoxazol, furazolidona, ácido nalidíxico, sulfisoxazol y estreptomina (CDC, 2010^b). Estudios realizados en el departamento de Artibonite en Haití revelan, que las muertes podían ocurrir con una rapidez tal que podría ser hasta de dos horas después de aparecidos los síntomas de la enfermedad (CDC, 2010^b). La OPS se había opuesto antes a la vacunación en Haití alegando que sería muy costosa y compleja, no obstante, modifica su posición al descubrir una reserva de dosis adicionales de vacunas y porque reconoce que el brote no se podría frenar a corto plazo (OPS, 2010^a).

2.5. Manifestaciones clínicas del cólera

El periodo de incubación de la enfermedad es extremadamente breve (de cinco horas a cinco días) lo que contribuye al patrón explosivo de los brotes y a que el número de casos aumente rápidamente. Alrededor del 75% de las personas infectadas no presentan síntomas, el vibrión colérico puede permanecer de siete a 14 días en las heces de los infectados, desde donde puede diseminarse al medio ambiente e infectar potencialmente a otros individuos (OMS, 2010^c). El

cólera puede ser un episodio subclínico leve sin complicaciones de diarreas o bien un proceso fulminante potencialmente mortal. Por lo general, el cuadro diarreico es indoloro y repentino, la diarrea es líquida y los vómitos suelen constituir los síntomas iniciales, aunque típicamente no se asocia a náuseas importantes. En los adultos, la pérdida de líquidos por las heces puede superar a un litro por hora, aunque su volumen suele ser inferior (Beers *et al*, 2007).

La enfermedad no causa fiebre, o esta es moderada, excepto en sus formas más avanzadas y se mantiene indemne el estado de conciencia (Pérez, 2009).

Las heces tienen un aspecto característico de líquido no bilioso gris, ligeramente opaco, con restos de moco, sin sangre y con un olor ligeramente dulce no molesto. Las heces características se denominan en "agua de arroz" por su semejanza con el agua en la que se ha lavado el arroz (Fauci *et al*, 2008).

El agotamiento hídrico y electrolítico provoca una sed intensa, oliguria, calambres musculares, debilidad y notable pérdida de la turgencia tisular, con ojos hundidos y piel de los dedos arrugada. Ninguna otra enfermedad produce en los adultos una deshidratación severa en solo pocas horas (Goldman y Ausiello, 2008). Se puede encontrar hipovolemia, hemoconcentración, oliguria, anuria, y acidosis metabólica. La hipovolemia prolongada puede causar necrosis tubular aguda y, sin tratamiento, este cuadro puede culminar en el colapso circulatorio, cianosis, estupor, y muerte (Beers *et al*, 2007).

2.6. Tratamiento

El cólera es fácil de tratar, solo requiere de la reposición rápida y suficiente de líquidos y electrolitos. Las tasas de mortalidad de la enfermedad suelen ser inferiores al 1% cuando se trata adecuadamente. Se ha demostrado de forma concluyente que los líquidos se pueden administrar por vía oral, pero en ocasiones se dificulta por la presencia de vómitos. La rehidratación oral aprovecha el mecanismo de co-transporte de hexosa- Na^+ , por el que Na^+ atraviesa el epitelio de la mucosa intestinal junto con una molécula que es transportada activamente con la glucosa (Fauci *et al*, 2008).

La OMS recomienda, actualmente, una solución de osmolaridad reducida de 245 mOsm/L (un litro de agua que contenga cloruro sódico 2,6 g; cloruro potásico 1,5 g; citrato trisódico 2,9 g; y glucosa 13,5 g a razón de 50-120 mL/kg en un período de cuatro a seis horas (OMS, 2006). Esta solución se puede administrar sin problemas, incluso a los lactantes si se alterna con líquidos exentos de sodio como la leche materna o el agua. Para mayor simplificación, la OMS aconseja la administración única y sistemática de esta solución en las enfermedades diarreicas, más que intentar elegir diferentes formulaciones en función de la causa (Fauci *et al*, 2008).

En los enfermos con deshidratación grave es preferible iniciar la rehidratación por vía intravenosa con Ringer Lactato. Se requieren, además, suplementos de potasio, de ser posible por vía oral. En los enfermos con deshidratación grave

(10% o más del peso corporal), el déficit total de líquidos se puede reponer sin dificultad en las primeras cuatro horas de tratamiento administrando la mitad del volumen de la hidratación en la primera hora, se continúa generalmente con el tratamiento oral intentando igualar el aporte de líquidos con la excreción; sin embargo, en los enfermos con diarrea voluminosa y continua puede ser preciso el tratamiento intravenoso prolongado para compensar las pérdidas de líquido gastrointestinal (Fauci *et al*, 2008).

Antes del uso de una terapia de rehidratación efectiva, el porcentaje de letalidad en las epidemias de cólera era superior al 40%, con decenas de miles de fallecidos (Sack, 2004).

Aunque el uso de antibióticos no es necesario para la curación, estos reducen la duración del proceso y el volumen de las pérdidas hídricas, a la vez que apresuran la eliminación de los microorganismos por las heces. El tratamiento con una sola dosis de tetraciclina (2 g) o de doxiciclina (300 mg) resulta eficaz en los adultos, pero no se recomienda en los niños menores de ocho años de edad debido a su posible depósito en los huesos y en los dientes en desarrollo (Girard *et al*, 2006).

La aparición de la resistencia a los antimicrobianos constituye una preocupación que siempre está presente en este contexto. Para los adultos con cólera, en zonas en las que la resistencia a las tetraciclinas es prevalente, se puede usar

alguna de las siguientes alternativas: ciprofloxacina en dosis única (30 mg/kg sin superar una dosis total de 1g); eritromicina (40 mg/kg diarios en tres dosis divididas durante tres días) o azitromicina a dosis única de 1g. Estos fármacos son también efectivos y de gran utilidad en la reducción del volumen total de las heces. Para los niños, la furazolidona ha sido el fármaco habitualmente recomendado, y el trimetoprim/sulfametoxazol como medicamento de segunda elección (Fauci *et al*, 2008).

En la reciente epidemia de Haití de octubre de 2010, se confirma la resistencia de *V. cholerae* a trimetoprim/sulfametoxazol, furazolidona, ácido nalidíxico y estreptomina. La terapéutica recomendada fue: para los adultos, doxiciclina como primera opción (300 mg en dosis única) y azitromicina como segunda (1g dosis única) o ciprofloxacino (1g dosis única). Para las embarazadas, azitromicina como primera opción (1g dosis única) y como segunda eritromicina (500 mg cada seis horas por tres días). Para los niños, doxiciclina en suspensión o tabletas como primera opción (2-4 mg/kg en dosis única) teniendo en cuenta los riesgos y beneficios; como segunda opción ciprofloxacina en suspensión o tabletas (20 mg/kg en dosis única) o azitromicina (20 mg/kg en dosis única sin pasar de 1g) o eritromicina (12,5 mg/kg cada seis horas por tres días) (OPS, 2010^b).

2.7. Vacunas contra el cólera

Las características más importantes de una vacuna ideal contra el cólera son: que la administración de una dosis que produzca altos niveles de protección en

pocos días y se mantenga por largo tiempo; que la vía de administración sea oral para la óptima estimulación del sistema inmune de la mucosa del intestino; que se logre la protección de los niños y las personas del grupo sanguíneo O; y que el envasado sea una formulación práctica factible para una vacunación masiva y de bajo costo (Tregngghi y Ceballos, 2005).

El Dr. Jime Ferran y Clua fue el primer investigador que utilizó una vacuna contra el cólera, durante un brote en Valencia en el año 1884. El desarrollo de esta vacuna no prosperó ya que éste se negó a dar información a una comisión del Instituto Pasteur que quería colaborar con el desarrollo de dicha vacuna. (Lafuente, 2006)

Es en el año 1960, que se realizan las primeras evaluaciones experimentales de vacunas parenterales contra *V. cholerae* O1 (OMS, 2009)

Las vacunas parenterales de bacterias inactivadas de *V. cholerae* se han dejado de utilizar porque confieren protección limitada y de corta duración (tres a seis meses en zonas endémicas); en regiones no endémicas, la protección es aún menos duradera. Por ser vacunas muy reactogénicas y debido a su escasa eficacia, no se recomiendan por la OMS (OMS; 2007; Tackek *et al*, 2008; OMS, 2010^a).

Para el desarrollo de vacunas contra el cólera se ha tenido en cuenta que *V. cholerae* es un microorganismo no invasivo y que genera una respuesta inmune

a nivel de la mucosa intestinal. Esta respuesta inmune confiere una protección duradera contra la enfermedad por lo que un preparado vacunal de administración oral debe contener, preferiblemente, una bacteria viva o que en el proceso de producción de las proteínas bacterianas conserven la estructura nativa, de manera que estimulen de forma efectiva el sistema inmune local (Tregnghi y Ceballos, 2005; Tacked y Sack, 2008). La inmunización oral estimula una memoria duradera que permite al sistema inmune una respuesta rápida a una posterior exposición al antígeno (Reed, 2007).

Las dos primeras vacunas orales licenciadas contra el cólera, que mostraron ser seguras e inmunogénicas, fueron la Dukoral (WC-BS) y la CVD-103 HgR. La primera está compuesta por células muertas de *V. cholerae* y la segunda por células vivas atenuadas (OMS, 1995).

La CVD-103 HgR, se deriva de la cepa 569 B *V. cholerae* O1, biotipo Clásico, serotipo Inaba, la cual fue manipulada genéticamente para suprimir el gen que codifica la subunidad A de la enterotoxina colérica, a la vez que mantiene la subunidad B. Se administra en una dosis única por vía oral (Kotloff *et al*, 1992). En los Estados Unidos, la cepa CVD 103-HgR confirió buena protección (60-80% en voluntarios adultos retados tres meses después de la vacunación; fue inmunogénica y bien tolerada en niños de tres meses de edad (Reed, 2007).

Un estudio realizado en Jakarta encuentra, que una dosis única de la vacuna CVD 103-HgR no confiere protección por largo tiempo y que esta solo se alcanza después de dos dosis (Richie *et al*; 2000). Esta vacuna ya no se fabrica por su alto costo y poco beneficio ante la epidemia actual (OMS, 2010^d).

Existe una vacuna viva atenuada (no licenciada): la Perú-15, derivada de la cepa C6709 *V. cholerae* O1 El Tor Inaba, a la cual se le realizaron una serie de supresiones y modificaciones (incluyendo la supresión de los genes que codifican la toxina colérica) (Kenner *et al*, 1995). Una sola dosis oral liofilizada de 2×10^8 UFC/mL de este candidato vacunal, fue segura e inmunogénica en un número limitado de voluntarios norteamericanos, con una eficacia del 100% en un estudio de reto con la cepa N16961 de *V. cholerae* O1 El Tor Inaba (Cohen *et al*; 2002). También mostró ser segura e inmunogénica en estudios realizados en Bangladesh, en adultos y niños (Qadri *et al*, 2005; Qadri *et al*, 2007).

En la actualidad, solo están disponibles dos tipos de vacunas anticoléricas ambas de administración oral: la Dukoral (WC-rBS) y la Shanchol o mORCVAX, estas últimas idénticas en término de cepas, aunque con distintos nombres porque fueron formuladas por fabricantes diferentes.

Dukoral (WC-rBS) es una vacuna monovalente a base de células enteras inactivadas con formalina y calor, de *V. cholerae* O1 (cepas clásicas y El Tor, Inaba y Ogawa) y subunidad B de toxina colérica recombinada (OMS, 2010^a).

Se aprobó su uso en 1991. Se utiliza para la vacunación de personas que viajan a zonas donde el cólera es endémico, aunque se ha utilizado en situaciones de crisis epidémica en Indonesia, Sudan y Uganda, y en un proyecto experimental en una zona endémica de Mozambique. (Holmgren y Svennerholm 1999). La subunidad B de la toxina colérica se fabricó primero por medios químicos (WC-BS) pero hoy en día se fabrica por tecnología de recombinación (WC-rBS) y son idénticas en términos de respuesta inmunitaria (OMS, 2010^a).

En trabajos de campo realizados en Biera, Mozambique, con la vacuna Dukoral WC-rBS, se reporta una eficacia protectora contra el cólera del 78% en una población donde la seroprevalencia de infección al VIH está entre un 20-30% (Lucas y Deen, 2005).

Las vacunas orales bivalentes Shanchol y mORCVAX son muy similares e incluyen los serogrupos O1 y O139. A diferencia de Dukoral, no contiene la subunidad B de la toxina bacteriana, ambas provienen de la vacuna denominada ORCVAX que fue autorizada y licenciada para uso exclusivo en Vietnam, en 1977 (OMS, 2009; Anha *et al*, 2007).

En el año 2004, en cooperación con el Instituto Internacional de Vacunas de Corea del Sur, ORCVAX fue reformulada para que cumpliera con los requisitos de la OMS y las prácticas adecuadas de fabricación. En el 2009, una vez finalizados con éxito los ensayos fase II, en la India y Vietnam, se autoriza la

utilización de la vacuna y se nombra, mORCVAX en Vietnam y Shanchol en la India (OMS, 2010^a).

Generalmente, la eficacia y la inmunogenicidad de las vacunas entéricas son menores (especialmente en niños) en áreas de pocos recursos, comparado con áreas desarrolladas del mundo (Clemens *et al*, 2005). En las regiones pobres los niños están mal nutridos, por lo que tienen deficiencias de micronutrientes y sufren deficiencias de vitaminas, hierro, yodo y zinc que pueden afectar la respuesta inmune ante la enfermedad o la vacunación (De Onis *et al*, 2004).

Actualmente, se encuentran en desarrollo varias vacunas, principalmente, las vacunas vivas atenuadas con capacidad de proveer con una sola dosis un largo periodo de protección. Sin embargo, no se espera que ninguna de ellas esté en el mercado en los próximos años (OMS, 2010^a).

Desde 1992, científicos cubanos están enfrascados en la obtención de una vacuna eficaz contra el cólera, en beneficio de nuestra población y de los ciudadanos de los países pobres del mundo. Como resultado del proyecto, se han desarrollado más de 30 cepas vivas atenuadas para la inmunización oral, que sufrieron la supresión de los genes del cromosoma bacteriano que codifican para la toxina colérica, lo que atenúa la virulencia de la bacteria y elimina su capacidad para producir el cólera clínico (Benítez *et al*, 1996; Robert *et al*, 1996).

Cuatro de estas cepas fueron escogidas para la evaluación mediante ensayos clínicos, en voluntarios sanos.

2.8. Principios éticos y buenas prácticas clínicas

El primer código ético referente a la investigación con seres humanos (código de Nuremberg) nace en 1947, como consecuencia de los horrores de la experimentación nazi durante la segunda guerra mundial (Ros, 2009).

En 1964, la XVII Asamblea Médica Mundial efectuada en Helsinki y las revisiones posteriores realizadas en 1975, 1983, 1989, 1996, 2000 y 2002, adopta una serie de recomendaciones éticas para los trabajos de investigación médica con seres humanos (Amaro *et al*, 2009).

En 1978, por encargo del Congreso de los Estados Unidos se elabora el informe Belmont en el que se exponen los tres principios éticos básicos que se deben aplicar en la investigación clínica con seres humanos que son: el respeto a las personas para que puedan tomar sus propias decisiones, el principio de la beneficencia, que significa protegerlas de todo daño, y el de justicia que se refiere a que los beneficios obtenidos de la investigación se deben aplicar a toda la sociedad (Galende, 1993).

En el año 2002 se reafirma que se debe tener cuidado al utilizar ensayos clínicos con placebos. Sin embargo, los ensayos con placebos son aceptados éticamente

cuando por razones metodológicas y científicas apremiantes, se necesita determinar la eficacia y la seguridad de un método preventivo, diagnóstico o terapéutico (García *et al*, 2009).

Los ensayos clínicos son investigaciones en las que se utilizan sujetos humanos, y están dirigidos a identificar o verificar los efectos clínicos, farmacológicos u otros efectos farmacodinámicos, o cualquier reacción adversa, y estudiar la absorción, distribución, metabolismo y excreción de un producto en investigación, con el objetivo de determinar su seguridad y eficacia (Rodríguez, 2004; OPS, 2005).

Los ensayos clínicos se deben realizar de acuerdo con los principios éticos descritos en la Declaración de Helsinki los cuales son consistentes con las buenas prácticas clínicas (BPC) y los requisitos reguladores vigentes, debe basarse en experimentos bien realizados de laboratorio y con animales; así como en un conocimiento profundo de la literatura científica pertinente (OMS, 2001).

Las normas de BPC son el conjunto de condiciones que debe cumplir un ensayo clínico para asegurar que se ha efectuado siguiendo un protocolo científicamente adecuado, respetando los derechos de los voluntarios incluidos en el mismo y garantizando la validez de los datos y resultados obtenidos (Ros, 2009). Su

cumplimiento asegura públicamente la protección de los derechos, la seguridad y el bienestar de los participantes en el ensayo (Moreno, 1997).

En diferentes partes del mundo, incluso en los Estados Unidos, Europa y Japón, durante los años 60 y 70 los estudios de reactogenicidad e inmunogenicidad de candidatos vacunales y otros muchos estudios clínicos, eran realizados con prisioneros o personas institucionalizadas por diversas causas. Por otro lado, muchos estudios se organizaban en países pobres, lejos del lugar donde se desarrollaba el producto, aunque la información científico clínica obtenida pertenecía a los países ricos. De esta manera, fueron probadas vacunas contra la shigelosis, el cólera y la fiebre tifoidea, entre otras (Ros, 2009).

En el año 1994, por iniciativa del Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas de los Estados Unidos, en la Escuela de Medicina de Maryland, surge la primera instalación piloto para los estudios clínicos controlados con vacunas que aún funciona hoy día con el nombre de Centro de Desarrollo de Vacunas (Levine *et al*, 1988^a). Dicha institución y el Centro de Ensayos de Vacunas en la Facultad de Medicina Tropical, Universidad Mahidol Bangkok, Tailandia, son las dos únicas instalaciones reconocidas en el mundo para realizar estudios de seguridad, reactogenicidad, inmunogenicidad y eficacia protectora de candidatos vacunales contra el cólera en humanos (Volunteer studies at the Vaccine Trial Centre, 1999; University of Maryland School of Medicine, 2010).

En la última década del siglo pasado, se produce un incremento de los ensayos clínicos conducidos en Cuba. En este contexto, es que en 1991 se crea el Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos (CENCEC) para el diseño, coordinación y ejecución de los mismos en el país. Insertado en este desarrollo se crean los comités de ética (CE) para la investigación científica. En 1998, por resolución del Ministerio de Salud Pública se orienta la conformación de los CE de las investigaciones científicas en aquellas instituciones hospitalarias que lo requieran, para que oficien como órganos asesores o consultivos y velen por el rigor ético de los proyectos y por la ejecución de las investigaciones (Sánchez, 2009).

3. Materiales y Métodos

3.1. Descripción general de la investigación

Se realizaron 12 ensayos clínicos piloto, en el periodo comprendido desde el 30 de junio de 1997 al 9 de julio del 2003. Del total de ensayos, 10 estuvieron destinados a evaluar un grupo de cepas de *V. cholerae* O1 atenuadas, candidatas a vacuna, 99 voluntarios inoculados con el principio activo y 44 con placebo. Los dos ensayos restantes fueron estudios de reto, el primero con 10 voluntarios, para determinar la capacidad protectora conferida por la cepa candidata vacunal seleccionada contra la diarrea (cepa de *V. cholerae* manipulada genéticamente, insuficientemente atenuada); y el segundo con 21

voluntarios, realizado con los mismos fines pero con una cepa de *V. cholerae* virulenta. Este último estudio constituyó la prueba de concepto, que permitió recomendar el escalado tecnológico y farmacéutico de la cepa 638 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa, como ingrediente farmacológico activo para la producción de una vacuna contra el cólera.

3.2. Sitio del estudio

Los estudios clínicos se ejecutaron en el Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”, centro destinado en Cuba para la evaluación clínica de productos vacunales en diferentes fases. Cuenta con un equipo de investigadores, médicos, técnicos, enfermeras y personal auxiliar entrenados en el manejo de pacientes y personas supuestamente sanas, en condiciones normales y de aislamiento. Es una moderna instalación que posee un hospital con sistema de climatización, habitaciones con baño para dos personas, suministro de agua permanente, sistema de acceso restringido, planta de tratamiento con salida de residuales controlados y esterilizados. Al hospital se le acondicionó una sala de medicina para que fuera utilizada como Unidad de Aislamiento para Riesgos Biológicos (UARB), con capacidad para 18 voluntarios en condiciones de ingreso hospitalario, con el fin de garantizar las medidas de bioseguridad y la evaluación clínica estrictamente observada de los voluntarios sanos. Cuenta con los equipos e insumos de seguridad necesarios, además de un cuerpo documental constituido por instrucciones, normas, procedimientos, reglamentos y registros, para garantizar la operación de la unidad en condiciones de seguridad biológica.

3.3. Cepas evaluadas en el estudio

Se evaluaron cuatro cepas genéticamente atenuadas, a diferentes concentraciones (tabla 1).

Tabla 1 Cepas genéticamente atenuadas de *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa e Inaba evaluadas en los ensayos clínicos piloto.

Cepas evaluadas	Atenuación
81 El Tor Ogawa	Primera generación
638 El Tor Ogawa	Segunda generación
1333 El Tor Inaba	Segunda generación
638T El Tor Ogawa	Tercera generación

La cepa atenuada 81 de primera generación se obtuvo por manipulación genética a partir de la cepa virulenta C7558 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa aislada durante la epidemia del Perú de 1991 (Benítez *et al*, 1996) y fue administrada en el ensayo en una sola dosis en una concentración de 10^9 UFC/mL. La cepa 638 de segunda generación se obtuvo a partir de la cepa atenuada 81 (Robert *et al*, 1996) y se administró en una sola dosis en el ensayo a diferentes concentraciones: 10^7 , 10^8 y 10^9 UFC/mL. La cepa atenuada 1333 de segunda generación se obtuvo por manipulación genética a partir de la cepa virulenta C6706 *V. cholerae* O1 El Tor Inaba (García y Benítez, 1996) aislada durante la epidemia del Perú de 1991, administrada en el ensayo en una sola dosis a una concentración de 10^7 y 10^8 UFC/mL. La cepa 638T de tercera generación (auxotrófica a la timidina) se obtuvo a partir de la cepa 638 (Valle *et al*, 2000), administrada a una concentración de 10^8 , 10^9 y 10^{10} UFC/mL.

3.3.1. Cepa control utilizada en los ensayos

En Cuba no existen casos de cólera reportados por más de un siglo, con el propósito de conocer susceptibilidad de la población a la enfermedad y la respuesta a esta cepa reactogénica conocida, el Comité de Ética del IPK, el Centro de Seguridad Biológica (CNSB) y el Centro para el Control de la Calidad de los Medicamentos (CECMED) autorizó realizar un estudio con la cepa atenuada JBK70 El Tor Inaba a concentración de 10^9 UFC/mL. Esta cepa procede del Centro de Desarrollo de Vacunas (CVD, siglas en inglés) de la Universidad de Maryland, Baltimore, Estados Unidos (Levine *et al*, 1988^b).

3.4. Primera fase: Evaluación y selección de cepas atenuadas

Se realizaron 10 ensayos clínicos piloto en voluntarios sanos para evaluar cepas de *V. cholerae* atenuadas, las que previamente se habían estudiado en modelos animales para comprobar su virulencia, capacidad colonizadora del intestino delgado e inmunogenicidad. El protocolo se denominó: Investigación clínica preliminar con cepas atenuadas de *Vibrio cholerae* para determinar reactogenicidad e inmunogenicidad, (Anexo1).

El estudio se organizó para que fuera un sistema continuo y eficiente de selección de voluntarios y de cepas candidatas según un orden de prioridad establecido por el grupo de investigadores principales del Instituto Finlay, del Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CENIC) y del IPK.

El conjunto de estudios permitió seleccionar cepas de *V. cholerae* O1, manipuladas genéticamente, seguras, no reactogénicas e inmunogénicas.

Los ciclos se realizaron entre el 30 de junio de 1997 al 9 de octubre del 2000 (tabla 2).

Tabla 2. Ensayos clínicos realizados para la selección de cepas, concentraciones utilizadas y voluntarios inoculados.

Número del ensayo	Fecha	Cepa	Concentración UFC/mL	Número de voluntarios inoculados
1	30/6/97	638	10^9	5
2	13/10/97	638	10^9	11
3	3/11/97	638	10^7 - 10^9	14
4	24/11/97	638	10^8 - 10^9	12
5	6/7/98	JBK 70	10^9	8
6	4/10/99	81	10^9	8
7	25/10/99	638 T	10^9	9
8	6/12/99	638 T	10^8 - 10^{10}	13
9	29/5/00	638	10^9	9
10	9/10/00	1333	10^7 - 10^8	10
Total de voluntarios				99

Fuente: Cuaderno de recogida de datos.

3.4.1. Diseño de los ensayos clínicos

Los ensayos clínicos piloto se realizaron a doble ciego y controlados con placebo. Cada ciclo de estudio tuvo un plan guía.

Todos los ensayos se realizaron en condiciones de ingreso hospitalario para evitar el escape de las cepas al medio ambiente y garantizar la evaluación clínica estrictamente observada de los voluntarios (tabla 3).

Tabla 3. Esquema general de los estudios de evaluación de las cepas en la etapa de ingreso hospitalario

Días	Intervención	Actividad
0	Inoculación con cepas o placebo	Ingreso y adaptación Observar y notificar eventos adversos
1-2-3-4-5		Aislar, identificar y cuantificar (UFC/mL) <i>V. cholerae</i> O1 en heces (1-3-5) días.
5	Tratamiento con doxiciclina	
6-7-8		Aislar, identificar y cuantificar (UFC/mL) diariamente <i>V. cholerae</i> O1 en heces. Perfil de seguridad por laboratorio clínico y medir título medio geométrico (TMG) de anticuerpos vibriocidas en suero a los siete días
9		Alta hospitalaria si tres coprocultivos negativos.

Se consideró día cero el día de administración de la cepa vacunal o el placebo. Del primer al cuarto día post-administración del candidato vacunal o el placebo, se monitorearon los eventos adversos. En días alternos (1-3-5), se aislaron, identificaron y cuantificaron las UFC/mL de *V. cholerae* O1 en heces. Al quinto día de la ingestión de la vacuna o el placebo se les administró doxiciclina (300 mg) a todos los participantes, en dosis única, de manera que los voluntarios abandonaran la sala de aislamiento sin excretar el microorganismo. Del sexto al octavo día de la administración de la vacuna o el placebo se realizaron tres coprocultivos en días consecutivos para aislar, identificar y cuantificar las UFC/mL de *V. cholerae* O1. Al séptimo día, se extrajo sangre para el estudio del perfil de seguridad de laboratorio clínico para conocer la existencia de alguna variación de los valores normales, después de la inoculación de la cepa y medir el título medio geométrico (TMG) de anticuerpos vibriocidas en suero. Al noveno

día, se produjo el alta hospitalaria si los tres coprocultivos fueron negativos a *V. cholerae*, en el caso contrario se aplicó nuevamente tratamiento con doxiciclina y los voluntarios se mantuvieron bajo aislamiento hasta tener tres coprocultivos negativos.

Los estudios de inmunogenicidad se realizaron el día cero y a los siete días con los voluntarios hospitalizados y de forma ambulatoria los días 14 y 28.

3.4.2. Preparación y administración del inóculo

Las cepas atenuadas fueron cultivadas en agar cerebro corazón y resuspendidas en solución salina estéril 0,9 %. Las suspensiones resultantes se ajustaron en un fotolorímetro Spectronic 401 a una concentración $1-5 \times 10^9$ UFC por densidad óptica entre 0,60-0,65 a una λ (longitud de onda) de 540 nm. Posteriormente, se diluyeron apropiadamente y se determinó el número de viables en placas (PNO, 1998).

Primeramente, los voluntarios ingirieron 120 mL de bicarbonato de sodio (MERCK) al 1,33% y pasados 30 minutos, cada voluntario ingirió una dosis única del inóculo o del placebo según correspondió, en 30 mL de la misma solución. Los voluntarios del grupo placebo recibieron una solución de bicarbonato de sodio indistinguible del preparado vacunal.

El monitor externo (persona perteneciente a la Dirección de Aseguramiento de la Calidad del Instituto Finlay y no perteneciente al equipo de investigadores vinculados directamente al ensayo clínico), verificó el proceso de

enmascaramiento del estudio, codificando los frascos que contenían el inóculo bacteriano o el placebo. El investigador clínico, por medio de una lista aleatoria asignó a cada voluntario un frasco previamente codificado por un personal del departamento de Matemática, Estadística y Modelación del Instituto Finlay (DMEFM), que se encargó de la selección aleatoria y codificación. En sobres sellados e independientes se archivaron por duplicado las listas en las que se describían los tratamientos asignados a cada voluntario y los códigos de los tratamientos; estos se custodiaron por el investigador principal (responsable del diseño, elaboración y conducción de los ensayos clínicos) y el promotor (representante de las instituciones creadoras y suministradoras del producto a evaluar) hasta su descodificación al finalizar el ensayo.

3.4.3. Principios éticos y buenas prácticas clínicas

Este protocolo cumplió estrictamente con las reglas internacionales de la ética médica y científica, de los principios de las BPC y la Declaración de Helsinki, (OMS 2001) y fue aprobado por el Comité de Ética del IPK, el Centro de Seguridad Biológica (CNSB) y el Centro para el Control de la Calidad de los Medicamentos (CECMED).

Los voluntarios reclutados procedían de distintas instituciones de la comunidad, (trabajadores del CENIC, del Instituto Finlay y del IPK) a los que se les explicó que su participación en el estudio era absolutamente voluntaria; además, recibieron una pormenorizada información, oral y escrita, sobre los objetivos de la investigación, beneficios, riesgos potenciales a los que se exponían, el tiempo

de duración del ensayo, sus deberes y derechos. Se les explicó a todos los procedimientos incluidos en el ensayo, así como que los grupos con tratamientos diferentes serían determinados aleatoriamente y que en el caso de ocurrencia de algún efecto adverso, serían aplicadas las medidas médicas previstas.

Se les informó a los voluntarios, que por razones de seguridad biológica, este se realizaría bajo condiciones de cuarentena legal, a las que debían atenerse y que podían abandonar el estudio en cualquier momento sin que esto implicase necesariamente el abandono de la sala de aislamiento, para lo cual era necesario haber cumplido con el tratamiento con doxiciclina y tener tres coprocultivos seriados consecutivos negativos para evitar la salida al medio ambiente de cepas de *V. cholerae* que no circulan en Cuba.

Los voluntarios conocían a quiénes debían contactar para responder alguna pregunta o duda relativa al ensayo.

El investigador principal brindó a los voluntarios la posibilidad de preguntar cualquier detalle del estudio antes de la firma de la planilla de Consentimiento Informado (Anexo 2) basado en lo descrito en la Declaración de Helsinki, 2001 y sus posteriores revisiones (Amaro Cano *et al*, 2009).

Diez días antes del ingreso, se reclutaron 40 voluntarios a los cuales se les realizaron exámenes de heces parasitológicos y coprocultivos. Los que obtuvieron resultados negativos a parásitos y bacterias patógenas, fueron nuevamente citados para realizarles un examen escrito referente a los conceptos básicos del ensayo, el cual debían aprobar para tener la certeza de que

comprendían correctamente las características y pormenores del estudio antes de obtener la firma de su voluntariedad para participar en los ensayos clínicos (consentimiento informado).

A continuación, a cada voluntario se le confeccionó una historia clínica que incluía interrogatorio y examen físico. A los declarados aptos, se les realizó extracción de sangre para la determinación de anticuerpos contra hepatitis A, B y C, y contra el VIH, además de hemoglobina, hematocrito, leucocitos totales y conteo diferencial, velocidad de sedimentación globular (VSG), grupo sanguíneo, así como análisis bioquímicos que incluían creatinina, glucemia, transaminasa glutámica oxalacética (TGO) y transaminasa glutámica pirúvica (TGP), análisis clínico de orina para detectar presencia de hematíes, leucocitos y albúmina.

A los participantes que pasaron satisfactoriamente las pruebas de exploración física y de laboratorio, se les aplicó un test psicométrico. Una vez aprobados todos los exámenes se les aplicaron los criterios de inclusión, exclusión y salida establecidos para este estudio.

3.4.3.1. Criterios de inclusión

1. Hombres de 18-40 años de edad.
2. Voluntariedad expresada mediante consentimiento informado escrito.
3. Ser considerado voluntario sano, por tener buen estado de salud física y mental establecidos por criterio médico mediante examen físico, de laboratorio y prueba psicométrica antes de comenzar el estudio.

3.4.3.2. Criterios de exclusión

1. Antecedentes de inmunodeficiencia.
2. Enfermedad cardiovascular, respiratoria, renal, hematológica, hepática, gastrointestinal, neurológica, desorden endocrino, psiquiátrico o del sistema retículo endotelial, referidos por el voluntario durante el examen clínico o detectados en los exámenes de laboratorio.
3. Alergia a las tetraciclinas.
4. Historia previa de vacunación contra el cólera.
5. Historia de terapia con antibióticos o gammaglobulinas durante los 30 días anteriores al estudio.
6. Estudios para anticuerpos del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) 1-2 seropositivos.
7. Resultados positivos al antígeno de superficie de la hepatitis B o a anticuerpos contra las hepatitis B y C.
8. Coprocultivo positivo para patógenos entéricos.
9. Estar bajo tratamiento inmunosupresivo (más de 14 días) u otro tipo de medicamento que modifique el estado inmunológico, excluyendo los esteroides tópicos o por inhalación.
10. Administración de cualquier vacuna 30 días antes del estudio.
11. Presencia de enfermedad aguda severa o moderada (con o sin fiebre) en el momento de su incorporación al estudio.
12. No aprobar el examen escrito de conocimientos del tema.
13. Parámetros de laboratorio fuera de los valores normales.

3.4.3.3. Criterios de salida del estudio

Que durante el desarrollo de la investigación se produjera alguno de los siguientes eventos:

1. Uso de algún medicamento o vacuna experimental registrada o no.
2. Administración por más de 14 días de inmunosupresores con esteroides o de otras drogas que modifiquen el sistema inmune. Se excluyen los esteroides tópicos o por inhalación.
3. Administración de inmunoglobulinas o hemoderivados
4. Aparición de un efecto adverso, relacionado o no con los productos utilizados, que haga peligrar la vida del voluntario.
5. Deseo expreso.

3.4.4. Evaluación de la reactogenicidad de las cepas

Se consideró como reactogenicidad de las cepas los eventos adversos esperados presentados por los voluntarios como diarreas, vómitos, cefalea, dolor abdominal, náuseas, malestar general, meteorismo y acidez estomacal, cinco días después de ser administrada la cepa vacunal.

Dentro de cada grupo de voluntarios inoculados con la misma cepa atenuada de *V. cholerae* O1 se cuantificaron los efectos adversos durante los cinco días posteriores a la administración del inóculo.

En el cuaderno de recogida de datos (Anexo 3) se registró un resumen de todos los eventos adversos esperados (diarreas, cefalea, meteorismo, cólicos y acidez)

cada seis horas durante las primeras 48 horas y cada ocho horas durante las siguientes 72 horas; después del quinto día, cada 24 horas.

A los voluntarios se les confeccionó, además, una historia clínica general donde se anotaron todos los eventos acaecidos en el momento en que ocurrieron.

Para la recolección de las heces fecales, se elaboró un dispositivo a partir de la tapa del servicio sanitario, a la que se le realizó un orificio central y una abertura en el frente, lo que le confería el aspecto de herradura a dicha tapa. Se le adaptó en la parte inferior un recipiente que podía ser extraído, donde se depositaba una bolsa plástica para recolectar las heces y le confería al voluntario la posibilidad de defecar en el recipiente y orinar por delante del recipiente directamente en la tasa sanitaria a la vez, sin mezclar la orina con las heces. Este dispositivo fue llamado colector de heces, el cual fue reconocido como resultado relevante de innovación tecnológica en el XV Forum Municipal de Ciencia y Técnica. Las heces fecales recogidas en la bolsa plástica, fueron visualizadas y pesadas por la enfermera y sus resultados se anotaron en el cuaderno de recogida de datos. (Anexo 3)

Para la definición de diarreas se tomó en cuenta la consistencia de las heces y su volumen.

Las heces se evaluaron por gradación según su consistencia del modo siguiente:

Grado 1: Firme.

Grado 2: Suave.

Grado 3: Líquida.

Grado 4: Acuosa de color opaco.

Grado 5: Agua de arroz.

Definición de diarreas: deposiciones de consistencia grados 3–5 que totalicen 200 g o más en 48 horas o una sola 300 g o más.

Todas las deposiciones de consistencia grados 3-5 se colectaron y pesaron durante los cinco días posteriores a la ingestión del preparado vacunal o el placebo.

Después de la administración de la doxiciclina, al concluir el quinto día, se dejó de notificar el peso de las heces debido a la acción bacteriostática que ejerce el medicamento sobre *V. cholerae* y, por ende, sobre la excreción del vibrio por las heces.

La magnitud de las diarreas se clasificaron de acuerdo al peso total de las heces de consistencia grado 3-5 recogidas en el transcurso de los cinco días posteriores a la ingestión del preparado vacunal o el placebo en :

0. Ausente.

1. Ligeras: < de 3 Kg.

2. Moderada: 3 a 5 Kg.

3. Severa: > 5 Kg.

Los vómitos era recogidos en bolsas plásticas para se pesados.

Se clasificaron de acuerdo a su cuantía en:

0. Ausentes

1. Ligeros: menos de dos y no producen deshidratación.
2. Moderados: más de dos y causan deshidratación ligera.
3. Severos: más de dos que llevan a deshidratación moderada o grave.

(Martínez, 2009).

El resto de los eventos adversos esperados tales como cefalea, dolor abdominal, náuseas, malestar general y meteorismo se evaluaron de acuerdo con los criterios siguientes:

0. Ausente.

1. Ligero: que se tolera con facilidad.
2. Moderado: que interfiere en la actividad normal.
3. Severo: que impide la actividad normal.

Se registraron, además, los signos vitales (temperatura, tensión arterial y frecuencia cardiaca) de los voluntarios cada seis horas, los dos primeros días que siguieron a la administración del inóculo, los otros tres días siguientes cada ocho horas y a partir del sexto día diariamente hasta la salida del hospital.

Se consideró fiebre cuando la temperatura axilar excedió los 38 grados celsius.

3.4.5. Seguimiento clínico de los voluntarios

Para el cuidado de la salud de los voluntarios se tomó como medida la observación constante de los síntomas, los eventos adversos esperados y no

esperados, la intervención terapéutica oportuna y la salida del ensayo del voluntario si se ponía en riesgo su vida, según el protocolo establecido de acuerdo a las BPC y los principios de la ética médica.

Además se estableció un perfil de seguridad de laboratorio con el fin de detectar alteraciones de los valores normales después de la inoculación de las cepas, para lo cual se obtuvieron muestras de sangre de los voluntarios participantes en el ensayo después de ingresados, antes de la inoculación y a los siete días posteriores a la administración oral del candidato vacunal. Para ello se realizaron las siguientes pruebas: hemoglobina, hematocrito y leucograma con conteo diferencial, TGO, TGP, glucemia, creatinina, orina, coprocultivos.

3.4.6. Tratamiento de los eventos adversos

Si el voluntario presentó deposiciones diarreicas de cualquier magnitud, para mantenerlo hidratado y evitar complicaciones, se le administró por vía oral un volumen de agua con sales de rehidratación en una cantidad equivalente a una y media veces las pérdidas.

Deshidratación: (Martínez, 2009).

Ligera: Se trató con sales de hidratación oral.

Moderada: Se trató con sales de hidratación oral.

Severa: Se trató con hidratación parenteral de acuerdo con lo recomendado (Martínez, 2009), además, se le administró doxiclicina (300mg) tan pronto toleró la vía oral.

3.4.6.1. Tratamiento concomitante

Durante los ensayos ningún voluntario recibió ningún medicamento que no fuera previsto en el protocolo. La doxiciclina sería utilizada para interrumpir la excreción de *V. cholerae* y, por lo tanto, su escape al medio ambiente a la salida de los voluntarios de la UARB.

Según se documenta en la literatura médica, la doxiciclina puede producir un aumento de la transaminasa pirúvica (Gilman's , 2006; Cheping y Díaz, 2006), por lo que a los voluntarios se les realizaron exámenes de TGP y TGO a los siete días de haber recibido el medicamento.

3.4.7. Evaluación de la dinámica de excreción

Se determinó el número de microorganismos viables de las cepas atenuadas excretadas por gramo de heces. Para ello se preparó una suspensión de un gramo de heces en 1 mL de solución salina estéril al 0,9%; se realizaron diluciones seriadas y cuantificación en placas de Agar TCBS (Levine *et al*, 1988^a).

Las muestras fueron recogidas en los días 1, 3 y 5 posteriores a la inoculación, y diariamente después de la administración del antibacteriano hasta obtener tres muestras sucesivas negativas, antes del alta hospitalaria. La identidad de las colonias se determinó por aglutinación con antisuero polivalente O1, monovalentes Ogawa e Inaba (Murex Biotech Ltd).

3.4.8. Evaluación de la inmunogenicidad de las cepas

Con el fin de evaluar la inmunogenicidad, se obtuvo de los voluntarios sangre total por punción venosa los días 0, 7, 14 y 28 para la determinación de anticuerpos vibriocidas por el método de Benenson (Benenson *et al*, 1968), modificado por Cedré (Cedré *et al*, 1999).

Los criterios de seroconversión se definieron como un incremento de la respuesta inmune de anticuerpos vibriocidas, de cuatro veces el título inicial a los 14 días de inmunizados.

La presencia de estos anticuerpos sirve como marcador de la secreción de anticuerpos IgA intestinales (Crean *et al*, 2000) y se utiliza como la medida de la inmunogenicidad de las vacunas orales cualquiera que sea su variante (Richie *et al*, 2000).

3.4.9. Apertura de los códigos

El investigador principal del ensayo clínico conservó debidamente sellada la documentación correspondiente a los códigos. La apertura de los códigos se realizó por el promotor del estudio al final de cada ciclo completo.

Solamente en caso de emergencia médica, donde se requiriera conocer el producto que recibió el sujeto con el fin de aplicar tratamiento adecuado, el investigador principal del ensayo clínico tenía la potestad de abrir el código y el deber de informar.

3.4.10. Variables evaluadas para cumplir los objetivos

Ensayo para la investigación clínica preliminar con cepas atenuadas de *Vibrio cholerae* para determinar reactogenicidad e inmunogenicidad.

Variable primaria de respuesta

- Ocurrencia de eventos adversos graves.
- Ocurrencia de diarreas.

Variables secundarias de respuesta

- Ocurrencia de eventos adversos no graves.
- Incidencia de valores fuera de rango con significación clínica de exámenes de laboratorio clínico 7 días después de la inoculación.
- Evaluación de la conversión de anticuerpos vibriocidas definida como un incremento de cuatro veces su título , en las muestras de suero tomadas al día 14 en relación a las tomadas antes de la inoculación de la cepa atenuada.
- Excreción de las cepas atenuadas.

3.4.11. Procesamiento estadístico

Se calcularon las frecuencias absolutas y relativas para las variables reactogenicidad, inmunogenicidad, excreción y para los eventos adversos presentados, en correspondencia con el grupo de voluntarios y la cepa inoculada. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para la comparación de proporciones. Un nivel de significación del 5% fue considerado en todas las comparaciones.

Tamaño de muestra

Teniendo en cuenta los objetivos del estudio así como las condiciones prácticas del mismo, el tamaño de muestra fue seleccionado convenientemente. Se incluyó un grupo placebo con el objetivo de controlar sesgos y factores de confusión. Este grupo se seleccionó como aproximadamente un tercio del total y no fue utilizado a los efectos de las comparaciones.

3.5. Segunda fase de los estudios clínicos

3.5.1. Estudios de reto atenuado

En esta fase se realizaron dos estudios, en el primero, se retó la cepa vacunal 638 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa, con su antecesora la cepa reactogénica 81 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa, pues a pesar de que se le retiraron los genes productores de la toxina colérica, resultó aún reactogénica a pesar de la atenuación y produjo diarreas en los voluntarios en los estudios de evaluación de las cepas.

Este estudio se realizó con el objetivo de obtener información preliminar de la protección conferida contra la diarrea por la cepa vacunal y poder realizar los ajustes prácticos necesarios antes de realizar el estudio de reto con una cepa virulenta de *V. cholerae*.

3.5.1.1. Diseño

Se realizó en dos etapas, en la primera se vacunó con la cepa candidata y en la segunda se retó con una cepa atenuada pero aún reactivogénica de *V. cholerae* (tabla 4).

Tabla 4. Esquema general del estudio de reto de la cepa candidata vacunal en la etapa de ingreso hospitalario

Días	Intervención	Actividad
Etapa 1		
0	Cepa 638 o placebo	Ingreso y adaptación Observar y notificar eventos adversos
1-2-3-4-5		Observar y notificar eventos adversos Aislar, identificar y cuantificar (UFC/mL) <i>V. cholerae</i> O1 en heces (1-3-5) días.
5	Doxiciclina	
6-7-8		Aislar, identificar y cuantificar (UFC/mL) <i>V. cholerae</i> O1 en heces diario. Perfil de seguridad por laboratorio clínico y medir título medio geométrico (TMG) de anticuerpos vibriocidas en suero a los siete días.
9		Alta hospitalaria si tres coprocultivos negativos.
Etapa 2 (28 días después)		
0	Cepa 81	Ingreso y adaptación Observar y notificar síntomas adversos
1-2-3-4-5		Observar notificar eventos adversos Aislar, identificar y cuantificar (UFC/mL) <i>V. cholerae</i> O1 en heces (1-3-5) días.
5	Doxiciclina	
6-7-8		Perfil de seguridad por laboratorio clínico y medir título medio geométrico (TMG) de anticuerpos vibriocidas en suero a los siete días
9		Alta hospitalaria si tres coprocultivos negativos.

3.5.1.2. Preparación y administración del inóculo

La preparación del inóculo se realizó de acuerdo a lo establecido para los estudios de selección de cepas. Para la primera etapa se seleccionaron 10 voluntarios, todos ingirieron primero 120 mL de una solución de bicarbonato de sodio (MERCK) al 1,33% y pasados 30 minutos, cinco de ellos ingirieron una dosis única de la cepa 638 de *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa a concentración de 10^9 UFC/mL. Los otros cinco ingirieron placebo en 30 mL de la misma solución de bicarbonato de sodio que fue indistinguible del preparado vacunal.

En la segunda etapa realizada 28 días después, los 10 voluntarios participantes en la primera etapa fueron readmitidos en la sala de aislamiento. Todos ingirieron 120 mL de una solución de bicarbonato de sodio (MERCK) al 1,33%; transcurridos 30 minutos, cada voluntario ingirió una dosis de la cepa modificada genéticamente (*V. cholerae* 81 O1 El Tor Ogawa) a concentración de 10^9 UFC/mL, dispensada en 30mL de una solución de bicarbonato de sodio al 1,33%.

Para el enmascaramiento del estudio se procedió de igual forma que en los estudios de evaluación de las cepas (acápites 3.4 y subacápites correspondientes a la primera fase del estudio).

Los principios éticos, criterios de inclusión, exclusión, salida del estudio, seguimiento clínico, tratamiento de las reacciones adversas, tratamiento

concomitante y dinámica de excreción, fueron realizados con las normativas y procedimientos descritos anteriormente.

3.5.1.3. Variables evaluadas para cumplir los objetivos

Variable primaria de respuesta

-Incidencia de diarreas en ambos grupos durante los cinco días posteriores a la inoculación de la cepa de reto.

Variables secundarias de respuesta

- Incidencia de cualquier evento adverso de cualquier naturaleza.
- Incidencia de valores fuera de rango con significación clínica de exámenes de laboratorio clínico 7 días después de la inoculación.
- Excreción de la cepa atenuada

3.5.1.4. Procesamiento estadístico

Se calcularon las frecuencias absolutas y porcentajes de la presencia de diarreas y de excreción en los grupos de voluntarios inoculados con la cepa vacunal y los del grupo placebo. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para las comparaciones entre grupos. Se utilizó un nivel de significación del 5%.

Tamaño de muestra

Se seleccionó convenientemente un tamaño de muestra de cinco voluntarios por grupo.

3.5.2. Estudio de reto con la cepa virulenta

Para este estudio se confeccionó un protocolo con modificaciones al que se elaboró con anterioridad para el estudio de selección de cepas, debido a la introducción de una cepa virulenta en los ensayos el cual se denominó “Estudio de reto controlado, aleatorizado, a doble ciego, con una cepa virulenta de *V. cholerae* para determinar la eficacia protectora de una dosis del orden de 10^9 UFC/mL de la cepa atenuada 638, inoculada por vía oral en voluntarios adultos sanos del sexo masculino”.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del IPK, por el CNSB y el CECMED, y recibió el código del Registro Público Cubano de Ensayos Clínicos: RPCEC00000072 y el número de referencia del CECMED: 438/06.004.03B. (Anexo 4)

La cepa virulenta utilizada para retar fue la 3008 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa que es del serogrupo, biotipo y serotipo homóloga a la cepa vacunal que fue aislada durante la epidemia de cólera en América en 1992, en dos pacientes Argentinos. La cepa es sensible a la tetraciclina, no está disponible en ninguna casa coleccionista internacional, pero es el estándar de reto O1 El Tor Ogawa, utilizado en el CDV de los Estados Unidos donde ha provocado diarrea en el 80% de los voluntarios retados (Tacket *et al*, 1997). Esta cepa fue donada por el CDV durante la visita a Baltimore de un grupo de investigadores cubanos, en

diciembre de 1999, cumpliéndose los requisitos establecidos para su importación.

3.5.2.1. Diseño

Constó de dos etapas al igual que el reto atenuado, con la diferencia que se utilizó una cepa virulenta comprobada de *V. cholerae*.

Por ser la primera vez que se realizaría en Cuba un ensayo de reto con una cepa virulenta, y con el objetivo de mantener el número probable de sujetos con diarreas severas dentro de un margen de seguridad para su atención y control, el estudio se realizó en dos ciclos, en el primero con ocho y el segundo con 13 voluntarios.

3.5.2.2. Preparación y administración del inóculo

La preparación del inóculo se realizó de igual forma que en los estudios de selección de cepas. En la primera etapa todos los voluntarios ingirieron primero 120 mL de bicarbonato de sodio (MERCK) al 1,33% y pasados 30 minutos, cuatro de ellos ingirieron una dosis de la cepa candidata vacunal 638 de *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa a concentración de 10^9 UFC/mL. Los otros cuatro restantes ingirieron el placebo en 30 mL de la misma solución que fue indistinguible del preparado vacunal.

Para el enmascaramiento del estudio se procedió de igual forma que en los estudios de evaluación de las cepas.

En la segunda etapa, realizada 28 días después, los voluntarios participantes en la primera fueron readmitidos en la sala de aislamiento. Todos ingirieron 120 mL de una solución de bicarbonato de sodio (MERCK) al 1,33%; transcurridos 30 minutos, cada voluntario ingirió una dosis de la cepa virulenta *V. cholerae* 3008 El Tor Ogawa, a una concentración de 10^5 UFC/mL dispensada en 30mL de una solución de bicarbonato de sodio al 1,33%.

El segundo ciclo se realizó de igual forma que el primero pero en esta ocasión participaron 13 voluntarios, ocho inoculados y cinco placebos.

En total, en los dos ciclos participaron 21 voluntarios, 12 recibieron la cepa vacunal en la primera etapa y nueve fueron utilizados como placebos, a los 28 días todos recibieron la cepa virulenta.

Los principios éticos, las BPC, los criterios de inclusión, exclusión, salida del estudio, seguimiento clínico, tratamiento de las reacciones adversas, medicación concomitante y dinámica de excreción, fueron realizados con las normativas y procedimientos descritos en el acápite 3.4 y subacápites correspondientes referentes a la evaluación de cepas de *V. cholerae* para su selección como candidato vacunal (primera fase del estudio).

Durante los estudios de reto se evaluó, también, la susceptibilidad al cólera del grupo de los voluntarios pertenecientes al grupo sanguíneo O, no protegidos por el candidato vacunal.

Las Variables evaluadas fueron iguales a las utilizadas en el reto atenuado.

3.5.2.3. Procesamiento estadístico

Se calcularon las frecuencias absolutas y porcentuales de la presencia de diarreas y excreción en los grupos previamente protegidos con la cepa vacunal y los placebos al ser retados con la cepa virulenta 28 días después.

Para medir protección, se consideró un $RR < 1$ y para evaluar la susceptibilidad al cólera de los voluntarios no inoculados que tuvieran grupo sanguíneo O, se consideró un $RR > 1$. Se estimó el intervalo de confianza al 95% (IC 95%) y se calcularon los valores de p considerándose significativos los inferiores a 0,05. La información se procesó en una base datos realizada en el Programa Microsoft Excel. El cálculo de las medidas utilizadas en el estudio analítico se realizó con el auxilio del Programa Epi Info versión 6,0.

Tamaño de muestra

El promotor esperó una incidencia de diarrea del 80% en el grupo que recibió el placebo y que el preparado vacunal fuera capaz de disminuir dicha cifra en un 75%. Según cálculos asintóticos y simulados, con 20 sujetos, 8 en el grupo placebo y 12 preparado vacunal, se detecta dicha disminución con un nivel de significación del 5% y una potencia del 80%.

Los cálculos fueron realizados utilizando las funciones *bpower* y *bpower.sim* de la biblioteca *Hmisc* implementada en el sistema R (R Development Core Team, 2004).

4. RESULTADOS

4.1. Estudios para la evaluación de las cepas

En este apartado se describen los resultados de la reactogenicidad residual, inmunogenicidad y excreción por las heces de los voluntarios de las cepas de *V. cholerae* O1 evaluadas en la primera fase del estudio para la selección del candidato vacunal. .

4.1.1. *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 638 a diferentes concentraciones

Abarcó los ensayos clínicos 1 al 4. En el primer ensayo se inocularon cinco voluntarios con la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 638 a una concentración de $1,9 \times 10^9$ UFC/mL y dos ingirieron placebo (tabla 5).

Un voluntario inoculado presentó diarreas. Dos excretaron vibriones y cuatro seroconvirtieron su título de anticuerpos vibriocidas.

En el segundo ensayo se inocularon 11 voluntarios con la cepa a una concentración de $2,16 \times 10^9$ UFC/mL y cuatro ingirieron placebo (tabla 6).

Tabla 5. Reactogenicidad residual, excreción y seroconversión de los voluntarios, inoculados con la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 638, concentración $1,9 \times 10^9$ UFC/mL.

No.	Inóculo (UFC/mL)	Dia- rreas	Cefa- lea	Meteo- rismo	Cóli- cos	Acidez	Excre- ción	Serocon- versión
1	$1,9 \times 10^9$	-	+	-	-	+	-	+
2	Placebo	-	-	+	-	+	-	-
3	$1,9 \times 10^9$	-	+	-	-	+	+	+
4	$1,9 \times 10^9$	+	-	+	-	+	-	+
5	$1,9 \times 10^9$	-	-	-	-	-	-	-
6	$1,9 \times 10^9$	-	-	-	+	-	+	+
7	Placebo	-	-	-	-	-	-	-

Leyenda: + Presenta el síntoma, excreción, seroconversión: - No esta presente.

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

Tabla 6. Reactogenicidad residual, excreción y seroconversión en los voluntarios, inoculados con la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 638, concentración $2,16 \times 10^9$ UFC/mL.

No.	Inóculo (UFC/mL)	Dia- rreas	Cefa- lea	Meteo- rismo	Cóli- cos	Acidez	Excre- ción	Serocon- versión
1	Placebo	-	-	+	+	-	-	-
2	$2,16 \times 10^9$	-	-	-	-	-	+	+
3	$2,16 \times 10^9$	-	-	-	-	-	+	-
4	$2,16 \times 10^9$	-	-	-	-	-	+	+
5	$2,16 \times 10^9$	-	-	+	-	-	+	+
6	$2,16 \times 10^9$	-	-	-	-	-	+	+
7	$2,16 \times 10^9$	-	-	-	+	-	+	+
8	$2,16 \times 10^9$	-	+-	+	+	-	+	+
9	$2,16 \times 10^9$	-	-	-	-	+	-	+
10	Placebo	-	-	+	-	+	-	-
11	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
12	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
13	$2,16 \times 10^9$	-	-	-	-	-	-	-
14	$2,16 \times 10^9$	-	-	-	-	-	+	+
15	$2,16 \times 10^9$	+	-	+	-	-	+	+

Leyenda: + Presenta el síntoma, excreción, seroconversión: - No esta presente.

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

Un voluntario inoculado presentó diarreas. Nueve excretaron vibriones y seroconvirtieron su título de anticuerpos vibriocidas.

En el tercer ensayo se evaluó la cepa a concentraciones de 10^7 y $1,25 \times 10^9$ UFC/mL, siete voluntarios fueron inoculados con cada concentración y cuatro con placebos (tabla 7).

Tabla 7. Reactogenicidad residual, excreción y seroconversión en los voluntarios inoculados con la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 638, concentraciones 10^7 y $1,25 \times 10^9$ UFC/mL.

No.	Inóculo (UFC/mL)	Dia- rreas	Cefa- lea	Meteo- rismo	Cóli- cos	Acidez	Excre- ción	Serocon- versión
1	Placebo	-	-	-	+	-	-	-
2	$1,25 \times 10^9$	-	-	-	-	-	+	+
3	$1,25 \times 10^9$	-	-	-	-	-	-	+
4	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
5	$1,25 \times 10^9$	-	-	+	+	-	+	+
6	10^7	-	-	-	-	-	-	+
7	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
8	10^7	-	-	-	-	-	+	-
9	10^7	+	-	-	+	+	+	+
10	10^7	-	-	+	-	-	+	+
11	$1,25 \times 10^9$	-	-	-	-	-	+	+
12	Placebo	+	-	-	-	-	-	-
13	10^7	-	-	-	-	+	-	+
14	10^7	-	-	-	-	+	-	-
15	$1,25 \times 10^9$	+	+	+	+	-	+	+
16	10^7	-	-	+	+	-	-	+
17	$1,25 \times 10^9$	+	-	-	-	-	+	+
18	$1,25 \times 10^9$	-	+	+	+	-	+	+

Leyenda: + Presenta el síntoma, excreción, seroconversión: - No esta presente.

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

Dos voluntarios inoculados a la mayor concentración presentaron diarreas y uno inoculado con la menor también la presentó. Seis de los inoculados con la concentración de $1,25 \times 10^9$ y tres con la de 10^7 UFC/mL excretaron vibriones, Siete de los que ingirieron la concentración más alta y cinco de los que ingirieron la menor, seroconvirtieron su título de anticuerpos vibriocidas.

En el cuarto ensayo se evaluó la cepa a concentraciones de $1,8 \times 10^8$ y $1,5 \times 10^9$ UFC/mL. Seis voluntarios fueron inoculados con cada concentración y cuatro recibieron placebos (tabla 8).

Tabla 8. Reactogenicidad residual, excreción y seroconversión en los voluntarios, inoculados con la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 638, concentraciones $1,8 \times 10^8$ y $1,5 \times 10^9$ UFC/mL.

No.	Inóculo (UFC/mL)	Dia- rreas	Cefa- lea	Meteo- -rismo	Cóli- cos	Acidez	Excre- ción	Serocon- versión
1	$1,5 \times 10^9$	-	+	+	-	-	+	+
2	$1,5 \times 10^9$	+	-	-	+	-	+	+
3	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
4	$1,8 \times 10^8$	-	-	-	-	-	+	+
5	$1,8 \times 10^8$	-	-	+	-	-	+	-
6	$1,8 \times 10^8$	-	+	-	-	-	+	+
7	$1,8 \times 10^8$	-	+	-	+	-	+	+
9	$1,5 \times 10^9$	-	-	+	-	-	+	+
10	$1,8 \times 10^8$	+	-	-	+	-	+	+
11	$1,5 \times 10^9$	-	+	-	-	-	+	+
12	$1,5 \times 10^9$	-	-	+	-	-	+	+
14	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
15	$1,8 \times 10^8$	-	-	+	-	-	+	+
16	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
17	Placebo	-	-	-	-	+	-	-
18	$1,5 \times 10^9$	-	-	+	+	-	+	-

Legenda: + Presenta el síntoma, excreción, seroconversión: - No esta presente.

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

Un voluntario inoculado a la mayor concentración y otro inoculado a la menor, presentaron diarreas. El 100% de los inoculados, con independencia de la dosis, excretaron la cepa vacunal y cinco de los seis de cada grupo de inoculados seroconvirtieron su título de anticuerpos vibriocidas.

4.1.2. *V. cholerae* O1 El Tor Inaba JBK70

En el quinto ensayo se evaluó la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Inaba JBK70 a una concentración de 10^9 UFC/mL utilizada en el estudio como control. Se inocularon con la bacteria ocho voluntarios y cuatro recibieron placebo (tabla 9).

Tabla 9. Reactogenicidad residual, excreción y seroconversión en los voluntarios, de la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Inaba JBK70, concentración 10^9 UFC/mL.

	Inóculo (UFC/mL)	Dia- rreas	Cefa- -lea	Meteo- -rismo	Cóli- -cos	Acidez	Excre- -ción	Serocon- -versión
1	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
2	10^9	+	-	-	-	-	+	+
3	Placebo	-	+	+	+	-	-	-
4	Placebo	-	-	+	-	-	-	-
5	10^9	+	-	+	-	-	+	+
6	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
7	10^9	+	-	-	+	-	+	+
8	10^9	+	+	-	-	-	+	+
9	10^9	-	-	-	-	-	-	+
10	10^9	-	-	-	-	-	+	+
11	10^9	-	-	-	-	-	+	+
12	10^9	-	+	-	-	+	+	+

Leyenda: + Presenta el síntoma, excreción, seroconversión: - No esta presente.

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

El 50% de los voluntarios inoculados presentaron diarreas, todos excretaron vibriones y siete de ocho seroconvirtieron su título de anticuerpos vibriocidas.

4.1.3. *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 81

En el sexto ensayo se inocularon ocho voluntarios con la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 81 a concentración de $1,6 \times 10^9$ UFC/mL, cuatro recibieron placebo (tabla 10).

Tabla 10. Resultados de la reactogenicidad residual, excreción y seroconversión cepa *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 81, concentración $1,6 \times 10^9$ UFC/mL.

No.	Inóculo (UFC/mL)	Dia- rreas	Cefa- -lea	Meteo- -rismo	Cóli- -cos	Acidez	Excre- -ción	Serocon- -versión
1	Placebo	-	-	-	-	+	-	-
2	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
3	$1,6 \times 10^9$	+	-	+	-	-	+	+
4	$1,6 \times 10^9$	-	-	-	-	-	+	+
5	$1,6 \times 10^9$	-	-	-	-	-	+	+
6	$1,6 \times 10^9$	+	-	-	+	-	+	+
7	Placebo	+	-	-	+	-	-	-
8	$1,6 \times 10^9$	-	-	+	-	-	+	+
9	$1,6 \times 10^9$	-	+	-	-	-	+	+
10	$1,6 \times 10^9$	-	+	-	-	-	+	+
11	$1,6 \times 10^9$	+	-	-	+	-	+	+
12	Placebo	-	-	-	+	-	-	-

Leyenda: + Presenta el síntoma, excreción, seroconversión: - No esta presente.

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

El 37,5 % de los voluntarios inoculados presentaron diarreas y todos excretaron vibriones y seroconvirtieron su título de anticuerpos vibriocidas.

4.1.4. *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 638T a diferentes concentraciones

Con esta cepa se realizaron los ensayos siete y ocho. En el ensayo número siete se inocularon nueve voluntarios con el microorganismo a una concentración de $1,4 \times 10^9$ UFC/mL y cuatro recibieron placebo (tabla 11).

Tabla 11. Reactogenicidad residual, excreción y seroconversión en los voluntarios, de la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 638T, concentración $1,4 \times 10^9$ UFC/mL.

No.	Inóculo (UFC/mL)	Dia- rreas	Cefa- lea	Meteo- -rismo	Cóli- cos	Acidez	Excre- ción	Serocon- versión
1	$1,4 \times 10^9$	-	-	+	-	+	-	-
2	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
3	$1,4 \times 10^9$	-	+	+	-	-	+	-
4	$1,4 \times 10^9$	-	-	-	-	-	-	-
5	$1,4 \times 10^9$	-	-	+	-	-	+	-
6	$1,4 \times 10^9$	-	-	+	-	+	-	-
7	Placebo	-	-	-	-	+	-	-
8	$1,4 \times 10^9$	-	-	+	-	-	-	+
9	Placebo	-	+	-	-	-	-	-
10	$1,4 \times 10^9$	-	-	-	-	-	+	+
11	$1,4 \times 10^9$	-	-	-	-	-	-	-
12	$1,4 \times 10^9$	-	-	-	-	+	-	+
13	Placebo	-	-	+	-	-	-	-

Leyenda: + Presenta el síntoma, excreción, seroconversión: - No está presente

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

Ninguno de los voluntarios inoculados presentaron diarreas, tres de los nueve excretaron vibriones y seroconvirtieron su título de anticuerpos vibriocidas.

En el ensayo número ocho la misma cepa se evaluó a una concentración de $1,06 \times 10^{10}$ en nueve voluntarios y a cuatro se les administró una concentración de $7,09 \times 10^8$ UFC/mL, cinco voluntarios recibieron placebo (tabla 12).

Tabla 12. Reactogenicidad residual, excreción y seroconversión en los voluntarios, de la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 638T, concentraciones $1,06 \times 10^{10}$ y $7,09 \times 10^8$ UFC/mL.

No.	Inóculo (UFC/mL)	Dia- rreas	Cefa- lea	Meteo- rismo	Cóli- cos	Acidez	Excre- ción	Serocon- versión
1	$1,06 \times 10^{10}$	-	-	-	-	-	+	+
2	$7,09 \times 10^8$	-	-	+	-	+	+	+
3	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
4	$1,06 \times 10^{10}$	-	-	+	-	-	-	+
5	$1,06 \times 10^{10}$	-	-	-	-	-	-	-
6	$7,09 \times 10^8$	-	+	-	-	+	-	-
7	$1,06 \times 10^{10}$	-	-	+	+	-	-	-
8	Placebo	-	-	+	-	-	-	-
9	$1,06 \times 10^{10}$	-	-	-	-	-	-	-
10	$1,06 \times 10^{10}$	-	-	-	-	-	-	-
11	$1,06 \times 10^{10}$	-	+	+	-	+	+	+
12	$1,06 \times 10^{10}$	-	-	+	-	-	-	-
13	$7,09 \times 10^8$	-	-	+	-	-	-	-
14	Placebo	-	-	+	+	-	-	-
15	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
16	$7,09 \times 10^8$	-	-	-	-	-	-	+
17	Placebo	-	-	+	-	-	-	-
18	$1,06 \times 10^{10}$	-	-	+	-	-	-	-

Leyenda: + Presenta el síntoma, excreción, seroconversión: - No esta presente

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

Ninguno de los voluntarios inoculados presentaron diarreas, dos de los nueve inoculados con la concentración de $1,06 \times 10^{10}$ UFC/mL excretaron vibriones e igual cifra seroconvirtieron su título de anticuerpos vibriocidas. Uno de los cuatro que ingirieron la concentración $7,09 \times 10^8$ UFC/mL, excretó vibriones y tres seroconvirtieron su título de anticuerpos vibriocidas.

4.1.5. *V. cholerae* El Tor Ogawa 638

En el noveno ensayo la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 638 se evaluó a una concentración de 10^9 UFC/mL. Se inocularon nueve voluntarios y otros nueve recibieron placebo (tabla 13).

Tabla 13. Reactogenicidad residual, excreción y seroconversión en los voluntarios, de la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 638, concentración 10^9 UFC/mL.

No.	Inóculo (UFC/mL)	Dia- rreas	Cefa- lea	Meteo- rismo	Cóli- cos	Acidez	Excre- ción	Serocon- versión
1	10^9	-	-	+	+	-	+	+
2	Placebo	-	+	-	-	-	-	-
3	10^9	-	-	-	-	-	+	+
4	Placebo	-	+	+	-	-	-	-
5	10^9	-	-	+	+	-	-	+
6	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
7	Placebo	-	-	+	-	-	-	-
8	10^9	-	-	+	-	-	+	+
9	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
10	10^9	-	+	-	-	-	+	+
11	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
12	10^9	-	-	-	-	-	-	+
13	Placebo	-	-	+	-	-	-	-
14	10^9	-	-	-	-	-	-	+
15	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
16	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
17	10^9	-	-	-	-	-	+	+
18	10^9	-	+	-	-	-	+	+

Leyenda: + Presenta el síntoma, excreción, seroconversión: - No esta presente

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

Ninguno de los voluntarios inoculados presentó diarreas. Seis inoculados con la cepa excretaron vibriones y todos seroconvirtieron su título de anticuerpos vibriocidas.

4.1.6. *V. cholerae* O1 El Tor Inaba 1333

En el décimo ensayo, la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Inaba 1333, a concentraciones de $1,73 \times 10^8$ UFC/mL y $2,3 \times 10^7$ UFC/mL se inoculó a 10 voluntarios (cinco con cada concentración), cuatro ingirieron placebo (tabla 14).

Tabla 14. Reactogenicidad residual, excreción y seroconversión en los voluntarios, de la cepa *V. cholerae* O1 El Tor Inaba 1333, concentraciones $1,73 \times 10^8$ UFC/mL y $2,3 \times 10^7$ UFC/mL.

No.	Inóculo (UFC/mL)	Dia- rreas	Cefa- lea	Meteo- rismo	Cóli- cos	Acidez	Excre- ción	Serocon- versión
1	$2,3 \times 10^7$	-	-	-	-	-	+	+
2	$1,73 \times 10^8$	-	-	+	-	-	+	+
3	$1,73 \times 10^8$	-	-	-	-	-	+	-
5	$1,73 \times 10^8$	-	-	-	+	-	+	+
6	Placebo	-	-	-	-	-	-	-
7	$2,3 \times 10^7$	-	-	-	-	-	+	-
8	$2,3 \times 10^7$	-	-	-	-	-	-	+
9	$1,73 \times 10^8$	-	-	-	+	-	+	+
10	Placebo	-	-	-	+	-	-	-
11	$1,73 \times 10^8$	+	+	-	-	-	+	+
12	$2,3 \times 10^7$	-	-	-	+	-	+	+
13	$2,3 \times 10^7$	-	-	-	+	-	+	+
14	Placebo	-	-	-	+	-	-	-
15	Placebo	-	-	-	+	-	-	-

Leyenda: + Presenta el síntoma, excreción, seroconversión: - No esta presente

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

Un voluntario inoculado con la menor concentración presentó diarreas. Cinco de los voluntarios inoculados con la concentración mayor y cuatro de los que ingirieron la menor, excretaron vibriones. Cuatro de cada grupo seroconvirtieron su título de anticuerpos vibriocidas.

4.1.7. Resultados globales de la evaluación de las cepas

La cepa modificada genéticamente *V. cholerae* JBK 70 El Tor Inaba utilizada como control en el estudio, produjo diarrea reactogénica en el 50% de los voluntarios, el 77% excretó la cepa por las heces y el 100% seroconvirtió en su título de anticuerpos vibriocidas.

Las dos cepas evaluadas que mostraron los mejores resultados fueron *V. cholerae* 638 O1 El Tor Ogawa y *V. cholerae* O1 El Tor Inaba 1333. *V. cholerae* de acuerdo a los métodos estadísticos utilizados al compararlas con las otras dos cepas evaluadas. El Tor Ogawa 638T provocó en los voluntarios baja reactogenicidad e inmunogenicidad. La cepa 81 *V. cholerae* El Tor Ogawa a pesar de ser muy inmunogénica, fue muy reactogénica (tabla 15).

En sentido general, los restantes eventos adversos que presentaron los voluntarios inoculados fueron catalogados como ligeros (tabla 16).

El perfil de seguridad de laboratorio, realizado siete días después de la inoculación de las cepas, no detectó alteraciones de los valores normales.

Tabla 15. Respuestas de los voluntarios frente a las cepas evaluadas, número y porcentaje de diarreas, excreción y seroconversión del título de anticuerpos vibriocidas.

Número de voluntarios Inoculados	Cepa	Concentración UFC/mL	Diarreas N (%)	Excreción N (%)	Seroconversión anticuerpos vibriocidas N (%)
7	638	10^7	1 (14,3)	3 (42,9)	4 (57,1)
6		10^8	1 (16,7)	6 (100,0)	5 (83,3)
38		10^9	5 (13,2)	29 (76,3)	34 (89,5)
5	1333	10^7	0 (0,0)	4 (80,0)	4 (80,0)
5		10^8	1 (20,0)	5 (100,0)	4 (80,0)
4	638T	10^8	0 (0,0)	1 (25,0)	2 (25,0)
9		10^9	0 (0,0)	3 (33,3)	3 (33,3)
9		10^{10}	0 (0,0)	2 (22,2)	3 (33,3)
8	81	10^9	3 (37,5)	7 (87,5)	8 (100,0)

Comparaciones estadísticas. Prueba exacta de Fisher. Diarrea:

No se detectan diferencias significativas ($p > 0,05$),

Comparaciones estadísticas Prueba exacta de Fisher. Seroconversión:

Se detectan diferencias entre las cepas 638 y 638T ($p = 0,001257$)

Se detectan diferencias entre las cepas 638T, y 81 ($p = 0,00904$)

El resto de las comparaciones no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$)

Fuente Cuaderno recogida de datos.

Tabla 16. Otras reacciones adversas esperadas y encontradas en los voluntarios en relación con la cepa y concentraciones inoculadas.

Voluntarios inoculados	Cepas	Dosis UFC /mL	Cefalea N (%)	Meteorismo N (%)	Cólicos N (%)	Acidez N (%)	Vómitos N (%)
7	638	10^7	0	2(28,6)	2 (28,6)	3 (42,9)	0 (0,0)
6		10^8	2(33,3)	2(33,3)	2 (33,3)	0 (0,0)	0 (0,0)
38		10^9	5 (13,2)	9(23,7)	6 (15,8)	6 (15,8)	0 (0,0)
5	1333	10^7	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (40,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
5		10^8	1 (20,0)	1 (20,0)	2 (40,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
4	638 T	10^8	1 (25,0)	1 (25,0)	0 (0,0)	2 (50,0)	0 (0,0)
9		10^9	1 (11,1)	4 (44,4)	0 (0,0)	1 (11,1)	0 (0,0)
9		10^{10}	1(11,1)	5 (55,6)	0 (0,0)	1 (11,1)	0 (0,0)
8	81	10^9	2(25,0)	2 (25,0)	2 (25,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Fuente: Cuaderno de recogida de datos.

4.2. Ensayos clínicos de reto

4.2.1. Estudio con una cepa atenuada de *V. cholerae*

La cepa *V. cholerae* 638 O1 El Tor Ogawa protegió contra la diarrea y dificultó la excreción de la cepa insuficientemente atenuada *V. cholerae* 81 O1 El Tor Ogawa administrada a cinco voluntarios en una concentración de 10^9 UFC/mL (tabla 17).

Tabla 17. Descripción de la ocurrencia de diarreas y de la excreción en los voluntarios inoculados con la cepa *V. cholerae* 638 O1 El Tor Ogawa, retados con *V. cholerae* 81 El Tor Ogawa.

Voluntarios	Número	Diarreas	Excreción
		N (%)	N (%)
Inoculados cepa 638	5	0 (0,0)	2 (40,0)
Placebos	5	3 (60,0)	5 (100,0%)

Comparación estadística. Prueba exacta de Fisher: No se detectó diferencia significativa entre los grupos con respecto a los porcentajes de diarrea o de excreción ($p=0,16667$).

Fuente: Cuaderno de Recogida de Datos

4.2.2. Estudio de reto con una cepa virulenta de *V. cholerae*

Se comparó la presencia de las deposiciones diarreicas entre los voluntarios previamente inoculados con la cepa 638 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa y los no inoculados, todos retados 28 días después con la cepa virulenta homóloga 3008. Los protegidos no tuvieron diarreas en contraste con un 78% de los no protegidos que sí presentó el síntoma (tabla18).

Tabla 18. Comparación de la presencia de diarreas entre los voluntarios previamente inoculados con la cepa 638 y los no inoculados, retados con la cepa virulenta.

Voluntarios	Número	Diarreas N (%)
Inoculados cepa 638	12	0 (0,0)
Placebos	9	7 (77,7)

Comparación estadística. Prueba exacta de Fisher: P= 0,00

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

La totalidad de los voluntarios inoculados con la cepa candidata 638, no presentaron diarreas al ser retados con la cepa virulenta. El RR no pudo ser determinado, de lo que se asume que la eficacia protectora exploratoria contra la diarrea fue del 100%.

Siete del total de nueve voluntarios que recibieron placebo tuvieron diarreas para un 77,8%; el promedio de deposiciones por voluntario fue de 14,7 y el rango del volumen de las deposiciones osciló entre 330 y 5 731 gramos (media: 2 340,1 g) (Tabla 19).

De acuerdo con la clasificación de las deposiciones diarreicas, en cinco de los voluntarios no protegidos con la cepa vacunal estas fueron ligeras, en uno moderadas y en otro severas; dos no presentaron diarreas.

Tabla 19. Respuesta de voluntarios no vacunados a la cepa virulenta, en relación con la presencia de diarreas y sus características.

Código Voluntarios	Volumen de las deposiciones $\mu = 2\ 340,1$	Número de deposiciones $\mu = 14,7$	Período de incubación (horas) $\mu = 33.40$	Duración de las diarreas (horas) $\mu = 53.00$
Ciclo 1				
3	5731	36	11.25	47.00
4	4845	39	28.45	123.00
5	1870	10	49.20	107.00
7*	-	-	-	-
Ciclo 2				
03	330	3	48.30	24.00
06	1530	5	22.00	25.00
07	1140	7	48.50	36.00
08*	-	-	-	-
10	935	3	26.10	9.00

Leyenda: * Voluntarios que no tuvieron diarreas; μ = valor de la media.

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

El voluntario número tres del primer ciclo, presentó un gran volumen diarreas en un corto tiempo y vómitos, por lo que requirió hidratación endovenosa, además se le administró Doxiciclina a las 24 horas de ingerir la cepa virulenta, debido al deterioro de su estado físico.

El voluntario número cuatro del primer ciclo presentó también un gran volumen de diarreas, pero distribuidas en un más largo periodo de tiempo y no tuvo vómitos, lo que nos permitió rehidratarlo de forma oral.

En la figura 1 se muestran otras reacciones adversas que aparecen relacionadas con la enfermedad tales como meteorismo, dolor abdominal, malestar general, náuseas, cefaleas y vómitos presentadas por los voluntarios después de ingerir la cepa virulenta.

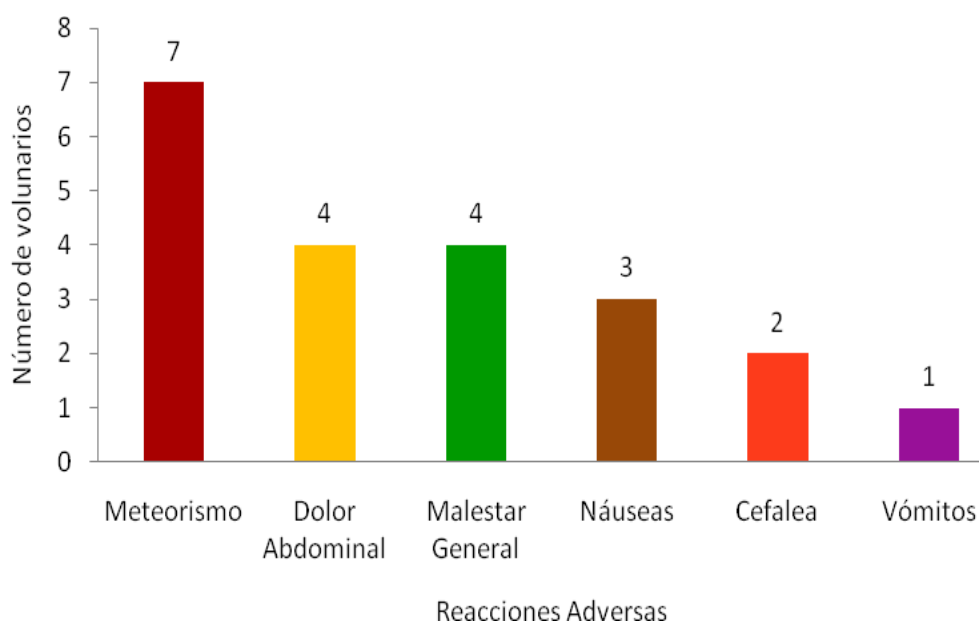


Figura 1. Reacciones adversas esperadas observadas en los voluntarios inoculados con la cepa virulenta, que no fueron inoculados previamente con la cepa 638.
Fuente: Cuaderno de recogida de datos

El perfil de seguridad de laboratorio, realizado siete días después de la inoculación de la cepa virulenta, no detectó alteraciones de los valores normales.

En los días siguientes a la administración de la cepa virulenta (3008 *V. cholerae* El Tor Ogawa) y después de la administración de la doxicilina, se evaluó en los

voluntarios protegidos y no protegidos la excreción de vibriones como expresión indirecta de la colonización del intestino por la bacteria. La excreción por las heces de la cepa virulenta fue mayor en los voluntarios no inoculados con la cepa vacunal, dos de ellos siguieron excretando bacterias 24 horas después de recibir la primera dosis de doxiciclina (tabla 20).

Tabla 20. Excreción por las heces de los voluntarios retados, vacunados y no vacunados, de la cepa virulenta 3008 *V. cholerae* El Tor O1 Ogawa.

Código Voluntarios	Días							
	1	3	5	6	7	8	9	
Ciclo 1								
1*	-	-	+	-	-	-	-	
2*	-	-	-	-	-	-	-	
3	+	-	-	-	-	-	-	
4	-	+	+	+	-	-	-	
5	+	+	+	-	-	-	-	
6*	-	-	-	-	-	-	-	
7	-	-	+	-	-	-	-	
8*	+	-	-	-	-	-	-	
Ciclo 2								
01*	-	-	-	-	-	-	-	
02*	-	-	-	-	-	-	-	
03	-	+	+	-	-	-	-	
04*	-	-	-	-	-	-	-	
05*	-	-	-	-	-	-	-	
06	+	+	+	-	-	-	-	
07	-	+	+	-	-	-	-	
08	-	-	+	-	-	-	-	
09*	-	-	-	-	-	-	-	
10	+	+	+	+	-	-	-	
11*	+	-	-	-	-	-	-	
12*	-	-	-	-	-	-	-	
13*	-	-	-	-	-	-	-	
	Doxiciclina				Doxiciclina			

Leyenda: * Voluntarios vacunados; (+) Excreción; (-) No excreción

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

De los 12 voluntarios no inoculados previamente con la cepa vacunal 638, tres de ellos (25%) excretaron la cepa virulenta en una ocasión mientras que los no inoculados todos la excretaron, el 33,3% en una ocasión y el 66,7% en dos o más ocasiones. El RR fue 0,25 (IC95%: 0,09-0,67); $p=0,0005$, como indicador de la protección contra la colonización entre los vacunados al compararlo con el grupo placebo (tabla 21).

Tabla 21. Frecuencia de excreción de la cepa virulenta comparando los grupos de voluntarios inoculados con la cepa 638 y los placebos.

Voluntarios	Número de Voluntarios	Un coprocultivo positivo N (%)	Dos o más coprocultivos positivos N (%)
Inoculados 638	12	3 (25,0)	0 (0,0)
Placebos	9	3 (33,3)	6 (66,7)
Total	21		

Prueba exacta de Fisher, $p=0,0005$ RR=0,25 (IC 95%: 0,09-0,67)
Fuente: Cuaderno de recogida de datos

Ninguno de los voluntarios del grupo sanguíneo O protegido con la cepa vacunal presentaron diarreas, los no protegidos, tuvieron un RR=1,5 (C95%: 0,85-2,64) de presentar diarreas al exponerse a la cepa virulenta 3008 *V. cholerae* El Tor Ogawa al compararlos con el grupo de voluntarios no protegidos con grupos sanguíneos diferentes, la p no fue significativa ($p=0,2568$), debido a lo pequeño de la muestra (tabla 22).

Tabla 22. Clasificación de las diarreas entre los voluntarios no protegidos con la cepa 638, según grupo sanguíneo.

Número Voluntarios	Grupo Sanguíneo	Total de Diarreas N (%)	Ligeras N (%)	Moderadas N (%)	Severas N (%)
3	O	3 (100,0)	1 (33,3)	1 (33,3)	1 (33,3)
6	No O	4 (66,7)	4(100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

RR=1,5 (IC95%: 0,85-2,64) Prueba exacta de Fisher, p=0,2568

Fuente: Cuaderno de recogida de datos

5. Discusión

5.1. Primera Fase. Estudios clínicos para la evaluación de cepas atenuadas

Durante la primera fase de este estudio se realizaron 10 ensayos clínicos en voluntarios sanos en un periodo de tres años para seleccionar, a partir de la evaluación de cuatro cepas atenuadas de *V. cholerae*, candidatos vacunales que pudieran utilizarse como principios farmacéuticos activos de una vacuna contra el cólera. Además, se incluyó en los estudios como control positivo la cepa atenuada pero aún reactogénica JBK 70 *V. cholerae* O1 El Tor Inaba.

Como parte de los resultados de esta investigación se obtuvo la cepa 81 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa, la que a pesar de habersele realizado la supresión de los genes que codifican para las dos subunidades de la toxina colérica, mostró una reactogenicidad inaceptable en los voluntarios evaluados, por lo que se descartó como candidato vacunal. En los estudios realizados con esta cepa, tres de los ocho voluntarios inoculados en los ensayos clínicos de la primera fase, (Tabla 10), más tres de los cinco que recibieron placebo en el estudio de reto atenuado, (tabla 17), presentaron diarreas para un 46,2% del total. Este resultado, es muy similar al obtenido con la cepa también atenuada pero reactogénica, JBK70 utilizada como control positivo en los estudios que, como se esperaba, (tabla 9), produjo diarreas en el 50% de los voluntarios inoculados.

La cepa 638T *V. cholerae* El Tor Ogawa no produjo diarreas en los voluntarios, (tabla 11 y 12), pero la respuesta inmune evaluada por la seroconversión de los anticuerpos vibriocidas y la excreción de vibriones por las heces como expresión de la colonización por la bacteria del intestino de los voluntarios, fueron muy pobres, por lo que tampoco calificó como candidato vacunal. Esta cepa estuvo sobreatenuada, de manera que se afectó apreciablemente su capacidad colonizadora del intestino y, por ende, su perfil inmunogénico.

La cepa *V. cholerae* O1 1333 El Tor Inaba fue inmunogénica, tuvo buenos niveles de excreción por las heces de los voluntarios y no fue reactogénica, (tabla 14). No obstante, a pesar de los buenos resultados alcanzados con esta cepa, es de señalar que pertenece al serotipo Inaba que no es el predominante en la actual epidemia del mundo (Calain *et al*, 2004; Ryan *et al*, 2006; OMS; 2008).

Estudios realizados por diversos autores (Levine *et al*, 1988^b; Tacket *et al*, 1992; Kenner *et al*, 1995; Tacket *et al*, 1997; Cohen *et al*; 2002) indican, que la mayor efectividad de los candidatos vacunales se alcanza cuando se retan con cepas homólogas, es decir, cuando pertenecen al mismo grupo, biotipo y serotipo, razones que determinaron se detuvieran los estudios con la cepa 1333, aunque sería muy atractivo continuar su escalado tecnológico con el fin de utilizarla en

regiones del mundo donde *V. cholerae* O1 El Tor serotipo Inaba, sea el predominante.

La cepa 638 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa administrada a una concentración de 10^9 UFC/mL, (tabla 15), cumplió con los atributos de ser inmunogénica, no reatogénica y tener un buen patrón de excreción por las heces de los voluntarios inoculados, aspecto muy relacionado con la capacidad de colonización del intestino y, consecuentemente, con la estimulación del sistema inmune a nivel de las mucosas intestinales. Por otra parte, esta cepa tiene la particularidad de pertenecer al serogrupo, biotipo y serotipo de las cepas virulentas más extendidas actualmente en el mundo (Attridge *et al*, 2002; Eko *et al*, 2003; Ravichandran *et al*, 2006; OMS,2010^b), por lo que su poder protector contra la enfermedad sería más efectivo que el de otros candidatos vacunales heterólogos.

Otras reacciones adversas encontradas en los voluntarios participantes en estos estudios, (tabla 16), fueron: cefalea, meteorismo, cólicos abdominales, acidez estomacal y vómitos. En todos los casos estas reacciones fueron catalogadas como ligeras y no tuvieron una relevancia importante al comparar las cepas entre sí y los grupos de voluntarios que indistintamente recibieron vacuna o placebo.

5.2. Segunda fase. Estudios de reto

5.2.1. Estudio de reto con cepa atenuada

Como se describió antes, en una primera etapa se utilizó para el reto la cepa 81 *V. cholerae* El Tor Ogawa, manipulada genéticamente pero aún reactogénica. Este estudio se realizó con solo 10 voluntarios se evidenció que la cepa atenuada 638 *V.cholerae* O1 El Tor Ogawa fue capaz de proteger contra la diarrea al 100% de los voluntarios inoculados, (tabla 17).

El monitoreo de la excreción por las heces de los voluntarios de la cepa con que se efectuó el reto, puso de relieve un 40% de excreción de la bacteria en el grupo vacunado contra un 100% de los que recibieron placebo, (tabla 17). Esto evidencia que la cepa 638 generó una respuesta de anticuerpos que dificultó la colonización de *V. cholerae*, en una segunda exposición al microorganismo lo cual, de hecho, es un indicador indirecto de la protección conferida por dicha cepa.

No se encontró información en la literatura especializada acerca de la realización de ensayos de reto con cepas vivas atenuadas que aún son reactogénicas, lo que impidió establecer comparaciones al respecto. No obstante, los resultados obtenidos en este estudio representan una experiencia valiosa para el manejo adecuado de los voluntarios, en pro de garantizar su salud con un apego estricto a los principios de la ética médica.

5.2.2. Estudio de reto con una cepa virulenta

Este estudio se considera básico ya que es la prueba de concepto que define si el candidato vacunal es capaz de proteger o no contra el cólera.

La cepa atenuada 638 utilizada a concentración de 10^9 UFC/mL, protegió contra las diarreas al 100% de los voluntarios, al ser inoculados 28 días después con la cepa virulenta 3008 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa (tabla 18).

En el CDV de Maryland de los Estados Unidos de Norteamérica, el modelo de reto utilizado para evaluar la protección conferida contra la diarrea, fue la cepa atenuada CVD111 *V. cholerae* El Tor Ogawa derivada de la cepa N1617. A dicho microorganismo le fueron eliminados los genes que codifican para la toxina colérica y se administró a los voluntarios a una concentración de 10^8 UFC/mL. Esta cepa es homóloga a la 638 y, tanto en ese ensayo como en este, se utilizó para el reto la cepa 3008 *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa a una concentración de 10^5 UFC/mL (Tacket *et al*, 1997).

El trabajo de Tacket y colaboradores notifica un 83,3% de protección en los voluntarios contra la diarrea (Tacket *et al*, 1997), resultados que fueron algo inferiores a los alcanzados en este estudio en el que se obtuvo un 100% de protección con la cepa candidata vacunal 638.

En el presente trabajo, el 77,8% de los voluntarios que recibieron placebo presentaron diarreas. El volumen medio de las heces emitidas fue de 2 340,1g y

la media de las deposiciones por voluntario de 14,7(tabla 9). Los resultados anteriores son también muy similares a los obtenidos por Tacket y colaboradores quienes notifican un 87,5% de diarreas para el grupo placebo, un volumen medio de heces de 2 534 g y un rango de 14 a 46 deposiciones en los voluntarios (Tacket *et al*, 1997)

No todos los voluntarios del grupo placebo presentaron síntomas clínicos al recibir la cepa virulenta. Igual sucede durante las epidemias de cólera, en que no todas las personas infectadas con el *V. cholerae* desarrollan la enfermedad severa, algunos presentan diarreas ligeras, mientras que otras, no presentan síntomas (Sack y Lang, 2004; CDC, 2011).

Levine y colaboradores (Levine *et al*, 1988^b), realizaron un estudio con cuatro grupos de voluntarios donde, en tres de ellos, utilizan la cepa vacunal oral CVD 103, procedente de la cepa Clásica Inaba 596B. Fueron retados con diferentes cepas virulentas de *V. cholerae*: el primer grupo con la cepa O1 Clásica Inaba 596B; el segundo, con la cepa virulenta O1 Clásica Ogawa 395; y el tercer grupo con la cepa virulenta O1 El Tor Inaba N16961. Los resultados de protección obtenidos contra la diarrea fueron de 87%, 82% y 67%, respectivamente. En el cuarto grupo se utilizó la cepa vacunal oral de células vivas atenuadas CVD-103 HgR, derivada de la 569B *V. cholerae* O1 biotipo Clásico, serotipo Inaba. Esta cepa fue manipulada genéticamente suprimiéndole el gen que codifica a la subunidad A de la enterotoxina colérica, a la vez que mantuvo la subunidad B;

tiene, además, la inserción de un marcador de resistencia al mercurio. Fue evaluada en un estudio clínico de reto frente al organismo virulento cepa virulenta O1 El Tor Inaba N16961. Como resultado, la protección contra la diarrea fue de solo un 62%, debido a que la cepa inmunizante y la de reto pertenecían a biotipos diferentes.

Estos resultados refuerzan el criterio que mientras más similares son las cepas atenuadas en cuanto a grupo, biotipo y serotipo en relación con las cepas virulentas usadas en el reto, la protección es mayor.

En el mismo sentido otro de los estudios conducidos por Tacket y colaboradores (Tacket *et al*, 1992) estuvo dirigido a determinar la duración de la protección contra la diarrea de la cepa vacunal CVD-103 HgR, biotipo Clásico serotipo Inaba retada con la cepa homóloga patógena 596B. Utiliza dos grupos de voluntarios cada uno con 22 y 29 sujetos, respectivamente. En el primer grupo, 11 sujetos fueron vacunados y 11 tratados con placebo, y fueron retados a los ocho días. El grupo de 29 voluntarios (14 vacunados y 15 con placebo) fue retado a los seis meses. En ambos grupos, la protección contra la diarrea fue del 100%.

Sin embargo Kenner y colaboradores (Kenner *et al* , 1995) realizan un ensayo clínico de reto con 10 voluntarios, cinco de ellos fueron vacunados con la cepa candidata Perú-15, derivada de la cepa C6709 O1 El Tor Inaba y, un mes

después, todos los voluntarios fueron retados con la cepa virulenta homóloga N16961. Obtiene un 60% de protección contra la diarrea a pesar de las cepas ser homólogas.

Por otra parte, Cohen y su grupo (Cohen *et al*, 2002) realizan un estudio de reto en 36 voluntarios, 24 de ellos vacunados con la cepa vacunal Perú-15 y 12 tratados con placebo. Tres meses después fueron retados con la cepa virulenta N16961 homóloga y obtienen un 96% de protección contra la diarrea.

Los tres estudios referidos antes utilizan cepas homólogas con variable protección pero tienen como desventaja, que utilizan cepas cepas para retar que no son las predominantes en la séptima pandemia (Attridge *et al*, 2002; Eko *et al*; 2003; Ravichandran *et al*, 2006) por lo que es de esperar en estos momentos sean de poca utilidad en la prevención de la enfermedad. En contraposición a ello, la cepa atenuada 638 *V.cholerae* El Tor Ogawa, pertenece al serogrupo, biotipo y serotipo más expandido actualmente en el mundo, y posee similares y mejores resultados que el resto de las cepas en estudio (Calain *et al*, 2004; Ryan *et al*, 2006; OMS; 2010^b).

Fue también objetivo en el ensayo de reto, monitorear la excreción de la cepa virulenta en las heces de los voluntarios, como indicador indirecto de la protección de los anticuerpos vibriocidas producidos por el candidato vacunal, contra la colonización de la mucosa del tubo digestivo por el microorganismo

De los 12 voluntarios inmunizados con la cepa 638; tres de ellos (25%) excretaron la cepa virulenta en una sola ocasión, mientras que los nueve restantes no vacunados (100%) excretaron *V. cholerae*, tres de ellos, una vez y los otros seis, en dos o más ocasiones (tabla 21). Estos hallazgos indican que hubo una mayor colonización por la bacteria en el intestino de los voluntarios no vacunados, a la vez que resultó en una mayor protección contra la colonización entre los vacunados, de acuerdo con los valores de RR encontrados (RR=0,25 [IC95%: 0,09-0,67]).

Considerar la excreción de vibriones por las heces como elemento de protección indirecto contra el cólera está avalado teniendo en cuenta que la inmunidad local desarrollada por la primoinfección de la cepa vacunal, a nivel de la mucosa intestinal, dificulta la colonización de la cepa virulenta (Kaper y Levine, 1990; Levine *et al*, 1992). Los resultados de la excreción obtenidos en esta investigación, (tabla 20), fueron similares también a los informados por otros estudios consultados y avala, una vez más, que la vacunación previa con una cepa atenuada de *V.cholerae* por vía oral, produce un aumento de la inmunidad local del intestino que dificulta la colonización en un segundo encuentro con el microorganismo (Tacket *et al*, 1992; Tacket *et al*, 1997).

El uso de la doxiciclina fue eficaz en el control del proceso infeccioso, ya que los tres voluntarios vacunados dejaron de excretar vibriones 24 horas después del uso del antibiótico y dos (22%) de los no vacunados, a las 48 horas (tabla20). Lo

cual coincide con lo reportado por otros autores que el uso de antibióticos acorta la duración de la enfermedad y evita su diseminación (Girard *et al*, 2006; OMS, 2010^d).

Aunque no fue objetivo de este trabajo estudiar la protección que confería el candidato vacunal contra la diarrea en los voluntarios teniendo en cuenta los diferentes grupos sanguíneos, se considera, que una vacuna efectiva contra el cólera debe proteger a todas las personas, incluso, aquellas con grupo sanguíneo O, dado que la causa no está totalmente esclarecida, se conoce que las personas con grupo sanguíneo O son más susceptibles al cólera y padecen los cuadros clínicos más graves de la enfermedad (Tacket *et al*, 1995; Sack *et al*, 1998; Clemens *et al*, 1989).

En este estudio se encontró, que los tres voluntarios no vacunados que tenían grupo sanguíneo O presentaron diarreas más severas, (tabla 22), en comparación con los voluntarios con otros grupos sanguíneos. Estos resultados aunque se obtienen de un escaso número de voluntarios, coinciden con lo informado antes por otros autores (Barua y Paquio, 1977; Chaudhuri y Das, 1978).

Algunos mecanismos se han propuesto para explicar la asociación entre las personas de los grupos sanguíneos ABO y el cólera. Uno de ellos expone, que el 80% de las personas del grupo A o B secretan al tubo digestivo polisacáridos

del grupo sanguíneo. Se ha demostrado que existe mayor incidencia de cólera en las personas no secretoras que en las secretoras (Chaudhuri, 1977). Otras teorías refieren, que los glicoconjugados de los grupos sanguíneos A y B de la sangre pudieran inhibir directamente la adherencia de los vibriones a la mucosa por la unión de dichas partículas a los receptores de la mucosa intestinal (Harris *et al*, 2005) o que pudieran alterar la microflora intestinal de tal manera que afectaran la colonización de la bacteria (Glass *et al*, 1985). Otros factores referidos como asociados a los grupos sanguíneos ABO son las diferencias en la motilidad intestinal y los receptores de la mucosa intestinal, los que no han sido suficientemente avalados (Cromwel *et al*, 1977).

Las diferencias entre los grupos sanguíneos y la acidez gástrica, no es una explicación factible ya que el grupo A, y no el O, es el que está asociado a la hipoclorhidria (Black *et al*, 1978).

Finalmente se debe señalar, que la investigación realizada demostró que una sola dosis oral a una concentración de 10^9 UFC/mL de cultivo fresco de *V. cholerae* 638 El Tor Ogawa, es bien tolerada, inmunogénica y capaz de ofrecer protección contra el cólera 28 días después de la administración de la cepa virulenta *V. cholerae* 3008, con la que se efectuó el reto. Los resultados obtenidos en los ensayos clínicos, confirmaron que se podía comenzar el escalado tecnológico y farmacéutico de esta prometedora cepa candidata, como

ingrediente activo de una vacuna contra el cólera y planificar los estudios de terreno futuros.

El estudio clínico de reto fue auditado por el CECMED y en sus conclusiones se comprueba acerca de la seguridad y protección adecuada de los voluntarios en el estudio; así como el cumplimiento aceptable de las BPC durante el ensayo.

(Anexo 5)

6. Conclusiones

1. Cepas *V. cholerae* O1 del biotipo El Tor; 638 del serotipo Ogawa y 1333 del serotipo Inaba, fueron seleccionadas como candidatos vacunales vivos atenuados, al quedar demostrada su no reactogenicidad y adecuada inmunogenicidad, para estudios de reto posteriores.
2. Los ensayos clínicos de reto demostraron que la cepa atenuada 638 protegió a la totalidad de los voluntarios sanos inoculados con una cepa virulenta de *V. cholerae*.
3. La inmunización previa de los voluntarios con la cepa atenuada 638 inhibió notablemente la colonización de la cepa virulenta de *V. cholerae*.

7. Recomendaciones

1. Culminar el desarrollo clínico de la cepa atenuada 638, primero con un ensayo clínico en la población infantil y después con un ensayo de eficacia
2. Desarrollar un candidato vacunal contra el cólera con la cepa atenuada 1333 *V. cholerae* O1 El Tor Inaba para ensayos clínicos en regiones del mundo con prevalencia del serotipo Inaba.
3. Mantener la sala de contención del IPK, como Sitio de Ensayos Clínicos, en los estudios que involucren la manipulación de microorganismos y requiera de su control con el fin de salvaguardar a los voluntarios y el medio ambiente.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaro Cano MC, González Menéndez R, Rodríguez Silva H, Moreno Rodríguez MA, Espinosa Brito A, Llanes Llanes E, et al. Ética médica y bioética. La Habana. Editorial Ciencias Médicas; 2009.
- Anha D, Canhado G, López AL, Thiem VD, Long P, Son NH, et al. Safety and immunogenicity of a reformulated Vietnamese bivalent killed, whole-cell, oral cholera vaccine in adults. *Vaccine*. 2007;25(6):1149–55.
- Attridge SR, Johansson C, Trach DD, Qadri F, Svennerholm AM. Sensitive assay for detection of bactericidal antibodies to *Vibrio cholerae* O139. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002;9 (2):383-7.
- Barua D. History of cholera. En: Barua D, Greenough W, editores. *Cholera*. New York, Plenum; 1992:1-35.2.
- Barua D, Paquio AS. ABO blood groups and cholera. *Ann Hum*. 1977;4:489-92.

- Beers MH, Porter RS, Jones TV, Kaplan JL, Berkwits M, editores. El Manual Merck de diagnóstico y tratamiento. 11^{na} Ed. España, Elsevier; 2007.
- Benenson AS, Saad A, Mosley K. The vibriocidal antibody response of cholera patients determined by a microtechnique. Bull .1968;38:277-83.
- Benítez JA, Silva A, Rodríguez BL, Fando R, Campos J, Robert A, et al. Genetic manipulation of *Vibrio cholerae* for vaccine development: construction of live attenuated El Tor vaccine strains. Arch MedRes. 1996;27:275-83.
- Bhattacharya SK, Bhattacharya MK, Nair GB, Dutta D, Deb A, Ramamurthy TG, et al. Clinical profile of acute diarrhea cases infected with the new epidemic strain of *V. cholerae* O139: designation of the disease as cholera. J Infect. 1993; 27:11-5.
- Bhattacharya S, Black R, Bourgeois L, Clemens J, Cravioto A, Deen J, et al. Public Health. The cholera crisis in Africa. Science. 2009;324:885.
- Black RE, Levine MM, Clemens ML, Hughes T, O'Donnell S. Association between O blood group and occurrence and severity of diarrhoea due to *Escherichia coli*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1978;81:120-3.

- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. 24^{ta} Ed. New York, McGraw-Hill; 2007.
- Calain P, Chaine JP, Johnson E, Hawley ML, O'Leary MJ, Oshitani H, et al. Can oral cholera vaccination play a role in controlling a cholera outbreak? Vaccine. 2004;22:2444-51.
- Cedré B, García HM, García LG, Talavera A. Estandarización y evaluación del ensayo vibriocida modificado. Rev Cubana Med Trop. 1999;51(3):156-9.
- Center for Disease Control and Prevention. Update: cholera outbreak: Haiti, 2010. Morb Mort Wkly Rep. 2010^a;59:1473-9.
- Center for Disease Control and Prevention. Update: outbreak of cholera: Haiti, 2010. Morb Mort Wkly Rep. 2010^b;59(43):1441[citado el 27 de diciembre de 2010]. Disponible en:
http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5948a4.htm?s_cid=mm5948a4_w
- Center for Disease Control and Prevention. Cholera: General Information, 2011 [Citado el 22 de Marzo del 2011]. Disponible en:
<http://www.cdc.gov/cholera/general/>

- Chambers HF. Protein synthesis inhibitors and miscellaneous antibacterial agents. En: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, Editores. Goodman and Chaudhuri A. Cholera and blood groups. Lancet. 1977;2:404
- Chaudhuri A, Das Ahikary CR. Possible role of blood-group secretory substance in the aetiology of cholera. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1978;72:644-5.
- Chen-Shan C, Sorenson J, Harris J, Robins W, Charles R, Jean R, et al. The origin of the Haitian cholera outbreak. New Engl J Med. 2010. [citado el 14 de diciembre de 2010]. Disponible en: <http://www.nejm.org>
- Cheping Sánchez N, Díaz Antúnez N. Formulario Nacional de Medicamentos. Ciudad de La Habana, ECIMED; 2006.
- Clemens J, Jodar L. Introducing new vaccines into developing countries: obstacles, opportunities and complexities. Nat Med. 2005;11:s12-5.
- Clemens JD, Sack DA, Harris JR. ABO Blood groups and cholera: new observations on specificity of risk and modification of vaccine efficacy. J Infect Dis. 1989;159:770-3.

- Cohen M, Giannella R, Bean J, Taylor D, Parker S, Hooper A, et al. Randomized, controlled human challenge study of the safety, immunogenicity and protective efficacy of ad single dose of Perú-15, a live attenuated oral cholera vaccine. *Infect Immun*. 2002;7(4):1965-70.
- Coster TS, Killen KP, Waldor MK, Beattie DT, Spriggs DR, Kenner JR, et al. Safety, immunogenicity and efficacy of live attenuated *V. cholerae* O139 vaccine prototype. *Lancet*. 1997;345:949-52
- Crean TI, John M, Calderwood SB, Ryan E. Optimizing the germfree mouse model for in vivo evaluation of oral *Vibrio cholerae* vaccine and vector strains. *Infect Immun* 2000; 68:977-981.
- Cromwell CL, Hoskins LC. Antigen degradation in human colon ecosystems: host's ABO blood type influences enteric bacterial degradation of cell surface antigen on *Escherichia coli* 086. *Gastroenterology*. 1977;73:37-41.
- Deen JI, Seidlein L, Sur D, Agtini M, Lucas M, López A L et al. The high burden of cholera in children: comparison of incidence from endemic areas in Asia and Africa. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(2):e173.

- De Onis M, Blossner M, Borghi E, Frongilo EA, Morris R. Estimates of global prevalence of childhood underweight in 1990 and 2015. JAMA. 2004;291:2600-6.
- Delgado García G. El cólera morbo asiático en Cuba: apuntes históricos y bibliográficos. Cuad Hist Salud Pública. 2006; [citado el 13 de julio de 2010];(78):4-44. Disponible en: <http://www.medicc.org/cubahealthreports/chr-article.php?&a=1038>
- Eko FO, Schukovskaya T, Lotzmanova EY, Firstova VV, Emalyanova NV, Klueva SN, et al. Evaluation of the protective efficacy of *Vibrio cholerae* ghost (VCG) candidate vaccines in rabbits. Vaccine. 2003;8(21):3663-74.
- Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison's principles of internal medicine. 17^a Ed. USA, McGraw-Hill; © 2008.
- Galende I. Problemas éticos de la utilización de seres humanos en investigación biomédica. Consecuencias sobre la prescripción de medicamentos. Med Clin (Barc). 1993;101:20-3.
- García Guillén D, Broggi Trías MA, Costa Pagés AM. Ética médica. En: Rozman C, Cardellach Lopez F, editores. Farreras-Rozman. Medicina Interna. 16 Ed. Madrid, Elsevier; 2009:55-68.

- García H, Valera Fernández M, Menéndez J. Nuevos enfoques sobre la aplicación de vacunas orales contra el cólera. *VacciMonitor*. 2010;19(2):24-9
- García L, Benítez J. Hacia el desarrollo de una vacuna eficaz contra el cólera. *VacciMonitor*. 1996;5(2):2-6.
- Gilman's. *The pharmacological basis of therapeutics*. 11^{na} Ed. USA, McGraw-Hill; 2006:1173-9.
- Girard MP, Steele D, Chaignat CL, Kieny MP. A review of vaccine research and development: human enteric infections. *Vaccine*. 2006;24:2732-50.
- Glass RL, Holgrem J, Haley CE, Khan MR, Svennerholm AM, Stoll BJ, et al. Predisposition for cholera of individuals with O blood group: possible evolutionary significance. *Am J Epidemiol*. 1985;121:791-6.
- Goldman C, Ausiello D. Editores. *Cecil Medicine*. 23ra Ed. New York: Elsevier; ©2008.
- Handa S. Cholera. [actualizado en 2010; citado el 6 de enero del 2011]. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/214911-overview>

- Harris JB, Khan AI, LaRocque RC, Dorer DJ, Chowdhury F, Faruque AS, *et al.* Blood group, immunity, and risk of infection with *Vibrio cholerae* in an area of endemicity. *Infect Immun.* 2005;73(11):7422–7.
- Holmgren J, Svennerholm AM. Vaccines against diarrheal diseases. En: Perlmann P, Wigzell H, editores. *Vaccines.* New York, Springer-Verlag; 1999:290-328.
- Ivers L, Farmer P, Almazor C, Leandre F. Five complementary interventions to slow cholera: Haiti. *Lancet.* 2010;376:2048-51.
- Kaper J, Levine M. Recombinant attenuated *V. cholerae* strain used as live oral vaccine. *Res Microbiol.* 1990;141:901-6.
- Kaper J, Morris G, Levine M . Cholera. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8:48.
- Kenner JR, Coster TS, Taylor DN, Trofa AF, Barrera Oro M, Hyman T, *et al.* Perú-15, an improved live attenuated oral vaccine candidate for *Vibrio cholerae* O1. *J Infect Dis.* 1995;172:1126-9.
- Koch R. An address on cholera and its bacillus. *Br Med J.* 1884;2:453-9.

- Kotloff, KL, Wasserman SS, O'Donnel S. Safety and immunogenicity in North Americans of a single dose of live oral cholera vaccine CVD 103-HgR: results of a randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover trial. *Infect Immun.* 1992;60:4430-2.
- Lafuente S, Vilella A, Serrano B, Gonzalez R, Bruni L. El cólera. *Enf Emerg* 2006;81(1):10-15.
- Levine MM, Kaper JB, Herrington D, Ketley J, Losonsky G, Tacket CO, *et al.* Safety, immunogenicity and efficacy of recombinant live oral cholera vaccines, CVD103 and CVD103HgR. *Lancet.* 1988^a;2:2467-70.
- Levine MM, Kaper JB, Herrington D, Losonky G, Morris JG, Clements ML, *et al.* Volunteer studies of deletion mutants of *Vibrio cholerae* 01 prepared by recombinant techniques. *Infect Immun.* 1988^b;56:161-7.
- Levine MM, Pierce NF. Immunity and vaccine development. En: Barua D, Greenough WB. 3rd, Editores. *Cholera.* New York, Plenum Medical Book Company; 1992:285-327.
- López Espinosa JA. Abril 20 de 1833: presentación del manifiesto sobre la primera epidemia de cólera en La Habana. *ACIMED.* 2007;15(4). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/aci/v15n4/aci14407.pdf>

- Lucas ME, Deen JL. Effectiveness of mass oral cholera vaccination in Beira, Mozambique. *N Engl J Med.* 2005;352:757-67.
- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Editores. Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 6^{ta} Ed. Philadelphia, Elsevier; 2005.
- Martínez A, Torras A. Alteraciones del metabolismo hidrosalino. En: Rozman C, Cardellach López F, editores. Farreras-Rozman Medicina interna. 16^{ta} ed. Madrid: Elsevier; 2009. p. 1851-1852.
- Moreno L. Desarrollo de un proyecto de investigación. *Rev Mex Pediatr.* 1997; 64(4):171-4.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología médica. 5^{ta} Ed. Madrid, Elsevier; 2006.
- Nair GB, Qadri F, Holmgren J, Svennerholm AM, Safa A, Bhuiyan NA, et al. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J Clin Microbiol.* 2006;44:4211-3.

- Organización Mundial de la Salud. International ethical guidelines for biomedical research involving human subjects. Geneva: 1993.
- Organización Mundial de la Salud. Meeting on the potential role of new cholera vaccine in the prevention and control of cholera outbreaks during acute emergencies. Geneva: 1995.
- Organización Mundial de la Salud. Ethical principles for medical research involving human subjects. Bull . 2001;79:373-4.
- Organización Mundial de la Salud; UNICEF. Oral rehydration salts: production of the new ORS. 2006. [Citado el 3 junio 2010]. Disponible en: http://.int/child-adolescent-ealt/NewPublications/CHILD_Health/_FCH_CAH_06.1.pdf
- Organización Mundial de la Salud. Position paper on cholera vaccine used in Iraq [actualizado el 5 de octubre de 2007; citado el 10 de febrero de 2009]. Disponible en:
<http://www..int/cholera/CholeravaccineuseinIraqpositionpaper051007.pdf>
- Organización Mundial de la Salud. Epidemias mundiales e impacto del cólera, noviembre 2008 [citado el 4 de febrero de 2009]. Disponible en:
<http://www..int/topics/cholera/impact/es/index.html>

- Organización Mundial de la Salud. Cholera: global surveillance summary, 2008. Weekly Epidemiol Rec. 2009;84(31):309-4.
- Organización Mundial de la Salud. Vacunas contra el cólera: Documento de la posición de la OMS Wkly Epidemiol Rec. 2010^a;85(13):117-28.
- Organización Mundial de la Salud. Cólera en Haití 2010^b. [citado el 29 de octubre del 2010]. Disponible en:
http://www.int/csr/don/2010_10_28/es/index.html
- Organización Mundial de la Salud Nota informativa N^o 107. Junio 2010^c. [Citado el 24 de agosto del 2010]. Disponible en:
<http://www.int/mediacentre/factsheets/fs107/es/print.html>
- Organización Mundial de la Salud. Cholera 2009. Weekly Epidemiol Rec. 2010^d;85(31):293-308.
- Organización Mundial de la Salud. Cholera 2010. Weekly Epidemiol Rec. 2011;86(31):325-340.
- Organización Panamericana de la Salud Guidelines and review procedures for research involving human subjects. Washington, DC. PAHO; 1995.

- Organización Panamericana de la Salud. Grupo de trabajo en Buenas Prácticas Clínicas. Buenas prácticas clínicas: informe y propuesta [Internet]. En: Red Panamericana para la Armonización de La Reglamentación Farmacéutica: documento IV-3 de la IV Conferencia Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica; 2-4 de marzo de 2005; República Dominicana. [citado el 24 de agosto de 2009]. Disponible en: http://www.paho.org/Spanish/AD/THS/EV/IVCONF_BPC-propuesta-esp.doc

- Organización Panamericana de la Salud. Posición de la OPS respecto a la vacunación contra el cólera en Haití, 2010^a [citado el 23 de diciembre del 2010]. Disponible en: http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2010/PAHO_position_cholera_vaccination-SPA.pdf

- Organización Panamericana de la Salud Recommendations for cholera clinical management. 2010^b. [citado 4 de noviembre 2010]. Disponible en: http://new.paho.org/disasters/index.php?option=com_content&task=view&id=1423&Itemid=1

- Pérez E. Infecciones causadas por vibrionáceas y otras bacterias espirilares. En: Rozman C, Cardellach López F, Editores. Farreras-Rozman Medicina Interna. 16^{ta} Ed. Madrid, Elsevier: 2009:2289-90.

- Procedimiento Normalizado de Operación (PNO). Preparación del inóculo para los ensayos de reactogenicidad e inmunogenicidad en humanos de cepas de *Vibrio cholerae*. 1998; Instituto Finlay, PNO 12-176.

- Qadri F, Chowdhury MI, Faruque SM, Salam MA, Ahmed T, Begur YA, et al. Randomized, controlled study of the safety and immunogenicity of Peru-15, a live attenuated oral vaccine candidate for cholera, in adult volunteers in Bangladesh. *J Infect Dis*. 2005;192(4):573-9.

- Qadri F, Chowdhury MI, Faruque SM, Salam MA, Ahmed T, Begur YA, et al. Peru-15, alive attenuated oral cholera vaccine: is safe and immunogenic in Bangladeshi toddlers and infants. *Vaccine*. 2007;25:231-8.

- R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2004. ISBN 3-900051-07-0. Disponible en: <http://www.R-project.org>

- Ravichandran M, Ali SA, Rashid NH, Kurunathan S, Yean CY, Ting LC, et al. Construction and evaluation of a O139 *Vibrio cholerae* vaccine candidate based on a *hemA* gene mutation. *Vaccine*. 2006;24(18):3750-61.

- Reed G. Promising Phase I/II trial for Cuban vaccine candidate amidst growing cholera threat. *Medic Review*. 2007 [citado el 11 octubre de 2009].
Disponible en:
<http://www.medicc.org/cubahealthreports/chr-article.php?&a=1038>
- Richie EE, Punjabi NH, Sidharta YY. Efficacy trial of single-dose live oral cholera vaccine CVD 103-HgR, in North Jakarta, Indonesia, a cholera-endemic area. *Vaccine*. 2000;18:2399-410.
- Robert A, Silva A, Benítez JA, Rodríguez BL, Fando R, Campos J, et al. Tagging a *Vibrio cholera*: El Tor candidate vaccine strain by disruption of its hemagglutinin/ protease gene using a novel reporter enzyme, *Clostridium thermocellum* endoglucanase A. *Vaccine*. 1996;14:1517-22.
- Rodríguez E. Comités de evaluación ética y científica para la investigación en seres humanos. *Acta Bioética*. 2004;10(1):37-47.
- Ros F. Ética de los ensayos clínicos. [citado el 20 de agosto del 2009].
Disponible en: <http://www.aceb.org/ens.htm>
- Ryan ET, Calderwood SB, Qadri F. Live attenuated oral cholera vaccines. *Expert Rev Vacc*. 2006;5(4):483-94.

- Ryan ET. The Cholera Pandemic, Still with Us after Half a Century: Time to Rethink. www.plosntds.org 2011;5(1):e1003.
- Sack DA. Cholera. *Lancet*. 2004;363:223-33.
- Sack DA, Lang DR. Cholera vaccines. En: Plotkin SA, Orestein WA, editores. *Vaccines*. 4ta ed. Philadelphia, Saunders; 2004:905-17.
- Sack DA, Tacket CO, Cohen MB, Sack B, Losonsky G, Shimko J, et al. Validation of a volunteer model of cholera with frozen bacteria as the challenge. *Infect Immun*. 1998; 66:1968-72.
- Sánchez AM. El consentimiento informado y la relación médico-paciente. *Bioética*. 2009;9:(3):4-8
- Seidlein L. Vaccines for cholera control: does herd immunity play a role? *PLoS Medicine* | www.plosmedicine.org. 2007;4(11):e331.
- Shimada T, Arakawa E, Itoh K, Okitsu A. Extended serotyping scheme for *V. cholerae*. *Curr Microbiol*. 1994;28:175-8.

- Siddique A, Nair G, Alam M, Sack D, Huq A, Nizam A, et al. El Tor cholera with severe disease: A new threat to Asia and beyond. *Epidemiol Infect.* 2010;138:347-352.

- Tacket CO, Cohen MB, Wasserman SS, Losonsky G, Livio H, Kotloff, et al. Randomized, double-blind, multicentered trial of the efficacy of a single dose of live oral cholera vaccine CVD 103 HgR in preventing cholera after challenge with *V. cholerae* O1 El Tor Inaba three months after vaccination. *Infect Immun.* 1999;67:6341-5.

- Tacket C, Losonsky G, Nataro JP, Comstock L, Michalski J, Edelma R, et al. Initial clinical studies of CVD 112 *Vibrio cholerae* O139 live oral vaccine: safety and efficacy against experimental challenge. *J Infect Dis.* 1995^a;172:883-6.

- Tacket C, Losonsky G, Nataro JP, Cryz JS, Edelman R, Kaper JB, et al. Onset and duration of protective immunity in challenged volunteers after vaccination with oral live cholera vaccine CVD 103 HgR. *J Infect Dis.* 1992; 166:837-41.

- Tacket C, Losonsky G, Nataro JP, Michalski J, Kaper JB, Levine MM. Volunteer studies investigating the safety and efficacy of live oral El Tor *ibrio cholera* O1 vaccine strain CVD 111. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;56:533-7.

- Tacket C, Losonsky G, Nataro JP, Wasserman SS, Edelman R, Levine MM. Extension of the volunteer challenge model to study South American cholera in a population of volunteers predominantly with blood group O antigen. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1995^b;89:75-7.
- Tacket C, Sack DA. Cholera vaccines. En: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit P, editores. *Vaccines.* 7ta ed. Philadelphia: WB Saunders; 2008. p. 127-38.
- Talavera A, Año G, Garcia H, Moreira T, Delgado R, Riveron L, et al. Process development for Cuba cholera vaccine based on the attenuated strain *Vibrio cholerae* 638. *Vaccine.* 2006;24:3746-9.
- Tauxe RV, Mitz ED, Quick RE. Epidemic cholera in the New World: translating field epidemiology into new prevention strategies. *Emerg Infect Dis.* 1995;1(4):141-6.
- Tregnghi M, Ceballos A, editores. *Manual de vacunas de Latinoamérica.* 3^{ra} Ed. Republica Dominicana: API, SLIPE; 2005.
- University of Maryland School of Medicine. Centers for Vaccine Development. An Organized Research Center of the University of Maryland

School of Medicine [Citado el 2 de Agosto del 2010]. Disponible en:

<http://medschool.umaryland.edu/CVD/>

- Valdés-Dapena Vivanco MM. Vibrios. En: Llop Hernández A, Valdés-Dapena Vivanco MM, Zuazo Silva JL, editores. Microbiología y Parasitología Médica. Ciudad de La Habana, Ecimed; 2001:333-9.
- Valle E, Ledón T, Cedré B, Campos J, Valmaseda T, Rodríguez B, et al. Construction and characterization of a non proliferative El Tor Ogawa vaccine candidate derived from strain 638. *Infect. Immun.* 2000;68:6411-8.
- Volunteer studies at the Vaccine Trial Centre. Cholera vaccines (against 01 serotype) [citado el 2 de Marzo de 1999]. Disponible en: <http://www.tm.mahidol.ac.th/en/vtc/vtcprojec.html>
- Waldor M, Hotez P, Clemens J. A national cholera vaccine stockpiles a new humanitarian and diplomatic resource. *N Engl J Med.* 2010;363:2279-82.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DEL AUTOR SOBRE EL TEMA DE LA TESIS

- García L*, Díaz Jidy M*, García H, Rodríguez BL, Fernández R, Año G, et al. The vaccine candidate *Vibrio cholerae* 638 is protective against cholera in healthy volunteers. *Infect Immun*. 2005;73:3018–24. (*Ambos autores tienen el mismo nivel de participación).

 - Díaz Jidy M, Pérez A, Fernández R, Bravo L, García H, Valera R, et al. Ensayo clínico de reto, para evaluar una cepa candidata a vacuna contra el cólera *Rev Cubana Med Trop*. 2010; 62(3):194-9.
- Código del Registro Público de Ensayos Clínicos RPCEC00000072. Número de referencia del CECMED: 438/06.004.03B
- Benítez J, García L, Silva A, Garcia H, Fando R, Cedré B, Pérez A, Campos J, Rodriguez B, Pérez J, Valmaseda T, Pérez O, Pérez A, Ramírez M, León T, Díaz Jidy M, Lastre M, Bravo L, Sierra G, Preliminary assessment of the safety and immunogenicity of a new CTX-negative, *Infect. Immun*. 1999.67:539–545.

- García H, Año G, Cedré B, Valmaceda T, Maestre J, Díaz Jidy M, et al. Selección de cepas atenuadas de *Vibrio cholerae* para la obtención de candidatos vacunales atenuados orales contra cólera. 2005; 57:92-104. Rev Cubana Med Trop. 2005;57:92-104.

- Valera R, García H, Diaz Jidy M, Mirabal M, Armesto M, Rafael F, et al. Randomized double-blind placebo controlled trial to evaluate the safety and immunogenicity of live oral cholera vaccine 638 in Cuban adults. Vaccine. 2009; 27: 6564-9.

EVENTOS Y RESULTADOS RELEVANTES DEL TRABAJO

- Safety and immunogenicity of a single dose of live attenuated oral cholera vaccine strain 638, in Ecuador. 6^{to} Congreso Latinoamericano de Inmunología (ALAI), 3^{er} Congreso Cubano de Inmunología. Cuba. 2002.
- Controlled volunteer challenge study of protective efficacy of a single oral dose of strain *Vibrio cholerae* 638, a Cuban cholera vaccine candidate. Biotecnología 2003. Cuba. 2003.
- Primer ensayo clínico de reto en Cuba, con una cepa virulenta de *Vibrio cholerae* en voluntarios inmunizados con la cepa atenuada 638. III- Taller Internacional de Diseño y Conducción de Ensayos Clínicos. 2004.
- Ensayo clínico de eficacia de la cepa atenuada 638 *Vibrio cholerae* O1 El Tor Ogawa en voluntarios sanos. VI Congreso Nacional de la Sociedad Cubana de Farmacología y Terapéutica; III Reunión de farmacoepidemiología; I Congreso de Ensayos Clínicos. 2005
- Evaluación clínica de dos antiácidos en la formulación final de la vacuna viva liofilizada de la cepa atenuada 638 *Vibrio cholera* O1 El Tor Ogawa. Congreso Farmacología Habana. 2007.
- Evaluación clínica de la vacuna viva liofilizada de la cepa atenuada 638 *Vibrio cholera* O1 El Tor Ogawa en poblaciones de Cuba y Mozambique. Congreso Farmacología Habana. 2007
- Normativas y características de los estudios de reto. 6-7 abril 2004

- Taller de la comisión de ensayos clínicos. CECMED. Evaluación clínica en voluntarios de la cepa 638
- VIII Congreso Centroamericano y del Caribe de Parasitología y Medicina Tropical. (4-7 diciembre de 2007)
- Características del cólera experimental. VII Congreso Cubano de microbiología y parasitología (1-4 de Junio 2009)
- Antigenic specificity of serum from volunteers inoculated with attenuated 638 *Vibrio cholerae* strain. V Congreso de Latinoamericano de Inmunología Primarias (LAGID). Uruguay. 1999
- Inhibición antigénica de la capacidad protectora del suero de humanos inoculados con una cepa atenuada de *Vibrio cholerae* O1 El Tor Ogawa. V Congreso de Latinoam. de Inmunología. III Congreso Uruguayo de inmunología. XLVII Congreso Argentino de Inmunología. V Encuentro del Grupo Latinoam. de Inmunodeficiencias Primarias (LAGID). Uruguay. 1999.
- Preliminary Assessment of the Safety and Immunogenicity of a New CTXF-Negative, Hemagglutinin/Protease-Defective El Tor Strain as a Cholera Vaccine Candidate. 35th U.S.-Japan Cholera and other Bacterial Enteric Infections Joint Panel Meeting. EE.UU.1999
- Controlled volunteer challenge study of protective efficacy of a single oral dose of strain *Vibrio cholerae* 638, a cuban cholera vaccine candidate. 35th U.S.-Japan Cholera and other Bacterial Enteric Infections Joint Panel Meeting. EE.UU. 2003

Maestría de Infectología

Ensayos clínicos del cólera. Dr. Daniel González

Forum de Ciencia y Técnica Nacional.

- Resultado relevante ensayos clínicos de reto. IPK (2004)
- XV Fórum Municipal. Ensayos Clínicos de reto. (Relevante), 17 Sep. 2004.
- XV Fórum Provincial Ensayos Clínicos de reto (Relevante), 23 Nov. 2004.

Reconocimientos

- Condecoración Medalla Hazaña Laboral. Por los ensayos clínicos de reto.
(23 de Mayo del 2003)
- Reconocimiento MINSAP por los ensayos clínicos, 5 de Octubre 2004.



CENTRO PARA EL CONTROL ESTATAL
DE LA CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS

Apdo. Postal 16065, Ciudad de La Habana, CP 11600, CUBA
Tel: 218645, Fax: 218065, Correo E~: cecmed@infomed.sld.cu

REPUBLICA DE CUBA
MINISTERIO DE SALUD PUBLICA

CENTRO PARA EL CONTROL ESTATAL DE LA CALIDAD
DE LOS MEDICAMENTOS

ERM: 435/96

Con fundamento legal en la Resolución Ministerial No. 178 del 8 de Octubre de 1991 y una vez satisfechas las exigencias establecidas en el mismo para la autorización de inicio de ensayos clínicos en humanos, se otorga la presente:

AUTORIZACION INICIO ENSAYO CLINICO

Se Autoriza a: Dra. Concepción Campa Huergo
Presidenta Instituto Finlay

Iniciar el ensayo clínico: Investigación clínica preliminar con cepas atenuadas de vibrio cholerae para determinar reactogenicidad e inmunogenicidad.

Producto: Preparado de cepas atenuadas de Vibrio Cholerae.

Forma Farmacéutica: Solución

No. de Registro: Producto no registrado

Vía de Administración: Oral

Composición: Cepas atenuadas de vibrio cholerae 01El Tor 81
Cepas atenuadas de vibrio cholerae 0139251a
Diluidas en solución de Bicarbonato de Sodio

Plazo de validez:

Condiciones de almacenamiento:

Fabricante: Centro Nacional de Investigaciones Científicas.
Instituto Finlay
Departamento Microbiología de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana.

4/10/96
[Handwritten signature]

gustavo

Ensayo Clínico: (Reactogenicidad e inmunogenicidad).

Descripción del ensayo autorizado: Se trata de una investigación clínica para realizar la evaluación en reactogenicidad residual de las cepas atenuadas y la inmunogenicidad inducida por dichas cepas a nivel mucosal, local y sistémico. Se organizará un sistema continuo y eficiente de selección de voluntarios y de estudios de cepas candidatas; se estudiarán aproximadamente 15 ó 20 voluntarios por ciclo, a razón de 4 para cada cepa. Las cepas seleccionadas pueden reestudiarse en nuevos ciclos o en grupos más numerosos de voluntarios. Se administrará el inóculo por vía oral, una solución de 2 g de bicarbonato de sodio en 150 mL de agua destilada tomando 120 mL de esta solución primero y un minuto más tarde la cepa atenuada diluida en los 30 mL restantes. La observación clínica será por 5 días después de la toma del preparado, a continuación recibirá 300 mg de doxiciclina en dosis única para eliminar vibriones y serán chequeados en tres días posteriores para garantizar la no excreción de vibriones. La duración del ciclo es de 12 días.

Recomendaciones:

1. Garantizar monitoreo estricto durante el desarrollo de la investigación.
2. Cumplimiento de las Buenas Prácticas Clínicas durante la ejecución del ensayo.
3. Informar con periodicidad semestral al CECMED sobre los resultados obtenidos.
4. Enviar informe final de la Comisión de Bioseguridad.

Fecha de autorización: 21 de Octubre de 1996

Dra. Deybis Orta Hernández
Esp. Evaluación y Registro
de Medicamentos.

Lic. Celeste Sánchez
J' Evaluación y Registro
de Medicamentos.

Vto. Bno.
Dr. Epifanio Selman-Housein Abdo
Director.

INFORMACIÓN A LOS VOLUNTARIOS Y ACTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO DEL ESTUDIO: Estudio de reto con una cepa virulenta de *Vibrio cholerae* para determinar la eficacia protectora de una dosis de 10^9 UFC de la cepa viva atenuada 638 inoculada por vía oral en voluntarios sanos, en comparación con un grupo control.

IDENTIFICACIÓN DEL ESTUDIO: Protocolo Cólera002

INFORMACION DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL:

Dr. Manuel Díaz Jidy

Jefe del Servicio de Hospitalización del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri"
Especialista de 2do grado en Medicina Interna, Profesor Auxiliar, Investigador Auxiliar

Otros profesionales que trabajan con el investigador principal como miembros de su equipo, lo podrán ayudar o actuar por él. Usted será uno de los aproximadamente 18 voluntarios a participar en este ensayo.

CENTROS PATROCINADORES:

Centro nacional de Investigaciones Científicas.
Instituto Finlay. Centro de Producción e Investigación de Vacunas y Sueros.

INTRODUCCIÓN:

El cólera es una enfermedad diarreica causada por la infección con una bacteria de la especie *Vibrio cholerae*.

El cólera es causado por los efectos de una toxina (proteína con propiedades tóxicas) producida por esta bacteria, la cual actúa sobre las células de la parte superior del intestino delgado, alterando su permeabilidad lo que provoca una pérdida importante de líquidos y sales en forma de diarrea.

El modo mediante el cual los individuos se infectan es por la ingestión de alimentos y agua contaminados con *Vibrio cholerae*, demorando en aparecer los síntomas por lo general de 24 a 72 horas. Han ocurrido epidemias de cólera en países de Asia, África y América. Los síntomas que presenta una persona con cólera pueden variar, desde una forma inaparente, hasta una severa infección. El síntoma dominante es una diarrea sin dolor que puede variar desde ligera a muy grave y provocar deshidratación (con pérdida de cantidades anormales de agua y sales), shock y muerte. Un paciente sin el tratamiento adecuado puede morir por deshidratación en horas o días, dependiendo de la intensidad de dicha diarrea. Adecuadamente tratada con tetraciclinas esta es una enfermedad de manejo simple y no deben ocurrir complicaciones.

A pesar de que existen vacunas para prevenir el cólera, éstas confieren solamente una protección limitada y de muy corta duración, lo que hace que estas vacunas no sean útiles en la práctica. Por estas razones existe una gran necesidad de desarrollar vacunas más efectivas contra el cólera. El presente experimento es parte de ese esfuerzo. Usted estará formando parte de un programa que tiene como objetivo el desarrollo una vacuna efectiva contra el cólera.

El diseño del ensayo presupone la evaluación de una cepa de cólera que ha sido modificada por técnicas de ingeniería genética, y se le han suprimido los genes que determinan su capacidad para producir la toxina colérica principal, que es la causante de la enfermedad grave; conservándose aquellos genes que codifican la información que le permite multiplicarse en el intestino y generar una respuesta inmune o defensiva en el organismo humano.

OBJETIVO:

El ensayo pretende demostrar la eficacia protectora de una dosis de 10^9 UFC de la cepa viva atenuada 638 inoculada por vía oral en voluntarios sanos, mediante el reto con una cepa virulenta de *Vibrio cholerae*.

DURACION:

El tiempo de participación de los voluntarios en este ensayo será de aproximadamente 2 meses.

APROBACIÓN:

El presente proyecto cumple estrictamente con todos los principios de la ética médica y científica, diseñándose de acuerdo con los principios de Buenas Prácticas Clínicas y la Declaración de Helsinki, y fue sometido a la consideración y aprobación de:

1. Los Comités de Ética del IPK y del Instituto Finlay.
2. Centro Nacional de Seguridad Biológica
3. Centro para el Control Estatal para el Control de la Calidad de los Medicamentos.

PROCEDIMIENTOS: El estudio constará de dos etapas:

Etapa I: Estudio de reatogenicidad e inmunogenicidad, con la participación de 18 voluntarios, consistente en la inoculación oral de una dosis de 10^9 UFC de la cepa atenuada *V. cholerae* 638 (El Tor Ogawa). Doce de los 18 voluntarios incluidos en esta etapa recibirán una mezcla que contiene la cepa "candidata a vacuna" y una solución de bicarbonato de sodio (buffer) para neutralizar la acidez del estómago y evitar que dicha cepa vacunal muera antes de llegar al intestino que es el sitio principal de la inmunización. (Grupo de estudio), el resto(4 voluntarios) solo tomará una solución de bicarbonato de sodio e integrará el grupo conocido como "Grupo control". La selección será realizada al azar y ninguno de los investigadores involucrados directamente en el ensayo ni los voluntarios conocerán que preparado tomó cada grupo. Cinco días después de tomar el preparado vacunal los voluntarios recibirán una dosis oral de 300 mg de doxiciclina y de esta forma serán eliminadas las bacterias atenuadas que aún queden en el intestino.

Etapa II: Estudio de eficacia protectora mediante reto con la cepa virulenta *V. Cholerae* 3008(El Tor Ogawa).

Se espera incluir en esta etapa a todos los voluntarios que participaron en la primera etapa.

Todos los voluntarios recibirán una dosis por vía oral de 5×10^5 y 1×10^6 UFC de la cepa virulenta 3008 un mes después de administrada la cepa vacunal(638), y al igual que en la primera etapa, cinco días después de tomar la cepa virulenta los voluntarios recibirán una dosis oral de 300 mg de doxiciclina. Con excepción de aquellos que sufran de diarreas intensas a los que se les administrará el tratamiento precozmente.

En ambas etapas usted permanecerá en una Unidad Aislada de Estudios Clínicos del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", durante 14 días. Allí dormirá, comerá y vivirá esos días junto a los otros voluntarios y el equipo médico. Una vez que administre la cepa atenuada o la cepa de reto, se declara bajo cuarentena dicha unidad. Después de iniciada la prueba y declarado legalmente el estado de "Cuarentena" es ilegal y penado por la Ley, el intento de abandonar la Unidad.

Se organizarán actividades de recreación y entretenimiento apropiadas. No podrá recibir visitas en todo ese tiempo.

Usted recibirá instrucciones precisas con respecto a su comportamiento en la Unidad Médica Especializada, donde se realizará el estudio y debe seguirlas disciplinadamente.

Usted debe recolectar cada deposición (heces fecales) durante el estudio, en un contenedor plástico especial.

Se coleccionarán 20 ml de sangre 7 días antes del internamiento para pruebas bioquímicas y serológicas, 35 ml los días 0, 7 y 15 ml los días 14, 21 y 28 posteriores a la inoculación con la cepa atenuada y 7, 14, 21

OBJETIVO:

El ensayo pretende demostrar la eficacia protectora de una dosis de 10^9 UFC de la cepa viva atenuada 638 inoculada por vía oral en voluntarios sanos, mediante el reto con una cepa virulenta de *Vibrio cholerae*.

DURACION:

El tiempo de participación de los voluntarios en este ensayo será de aproximadamente 2 meses.

APROBACIÓN:

El presente proyecto cumple estrictamente con todos los principios de la ética médica y científica, diseñándose de acuerdo con los principios de Buenas Prácticas Clínicas y la Declaración de Helsinki, y fue sometido a la consideración y aprobación de:

1. Los Comités de Ética del IPK y del Instituto Finlay.
2. Centro Nacional de Seguridad Biológica
3. Centro para el Control Estatal para el Control de la Calidad de los Medicamentos.

PROCEDIMIENTOS: El estudio constará de dos etapas:

Etapa I: Estudio de reatogenicidad e inmunogenicidad, con la participación de 18 voluntarios, consistente en la inoculación oral de una dosis de 10^9 UFC de la cepa atenuada *V. cholerae* 638 (El Tor Ogawa) Doce de los 18 voluntarios incluidos en esta etapa recibirá una mezcla que contiene la cepa "candidata a vacuina" y una solución de bicarbonato de sodio (buffer) para neutralizar la acidez del estómago y evitar que dicha cepa vacunal muera antes de llegar al intestino que es el sitio principal de la inmunización. (Grupo de estudio), el resto(4 voluntarios) solo tomará una solución de bicarbonato de sodio e integrará el grupo conocido como "Grupo control". La selección será realizada al azar y ninguno de los investigadores involucrados directamente en el ensayo ni los voluntarios conocerán que preparado tomó cada grupo. Cinco días después de tomar el preparado vacunal los voluntarios recibirán una dosis oral de 300 mg de doxiciclina y de esta forma serán eliminadas las bacterias atenuadas que aún queden en el intestino.

Etapa II: Estudio de eficacia protectora mediante reto con la cepa virulenta *V. Cholerae* 3008(El Tor Ogawa).

Se espera incluir en esta etapa a todos los voluntarios que participaron en la primera etapa.

Todos los voluntarios recibirán una dosis por vía oral de 5×10^5 y 1×10^6 UFC de la cepa virulenta 3008 un mes después de administrada la cepa vacunal(638), y al igual que en la primera etapa, cinco días después de tomar la cepa virulenta los voluntarios recibirán una dosis oral de 300 mg de doxiciclina. Con excepción de aquellos que sufran de diarreas intensas a los que se les administrará el tratamiento precozmente.

En ambas etapas usted permanecerá en una Unidad Aislada de Estudios Clínicos del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", durante 14 días. Allí dormirá, comerá y vivirá esos días junto a los otros voluntarios y el equipo médico. Una vez que administre la cepa atenuada o la cepa de reto, se declara bajo cuarentena dicha unidad. Después de iniciada la prueba y declarado legalmente el estado de "Cuarentena" es ilegal y penado por la Ley, el intento de abandonar la Unidad.

Se organizarán actividades de recreación y entretenimiento apropiadas. No podrá recibir visitas en todo ese tiempo.

Usted recibirá instrucciones precisas con respecto a su comportamiento en la Unidad Médica Especializada, donde se realizará el estudio y debe seguirlas disciplinadamente.

Usted debe recolectar cada deposición (heces fecales) durante el estudio, en un contenedor plástico especial.

Se coleccionarán 20 ml de sangre 7 días antes del internamiento para pruebas bioquímicas y serológicas, 35 ml los días 0, 7 y 15 ml los días 14, 21 y 28 posteriores a la inoculación con la cepa atenuada y 7, 14, 21

BENEFICIOS ESPERADOS:

No se puede asegurar un beneficio individual por participar en este estudio pues hasta que no concluya el ensayo no conoceremos si la cepa 638 protegerá contra el cólera.

Los resultados de ensayos anteriores, en los que se evaluó con pruebas de laboratorio la capacidad de la cepa 638 de estimular la inmunidad nos indican que debe ser capaz de proteger a los voluntarios contra la enfermedad.

CONFIDENCIALIDAD Y ACCESO A LOS DATOS:

- 1.- Sus datos personales, incluyendo los datos relativos a su salud, serán registrados y procesados con el fin de evaluar el resultado del estudio. El procesamiento será realizado por el Instituto Finlay. Sus datos también podrán ser procesados para el registro del producto y para la notificación a los organismos que controlan la seguridad y la eficacia de las medicinas. Sus datos también podrán ser procesados con el fin de fomentar los conocimientos científicos.
- 2.- Su participación en el estudio será tratada con toda confidencialidad. En ningún informe sobre el estudio se harán referencias a usted bajo su nombre, y su identidad no será revelada a ninguna persona salvo en aquellas circunstancias en que resulte necesario verificar la exactitud o la integridad de los datos o cuando esta información vaya destinada a agencias reguladoras encargadas del registro y la seguridad de las medicinas.
- 3.- Sus datos médicos o muestras de estudio (p.e. sangre) podrán ser enviados y procesados por cualquier Institución convenida fuera o dentro del país, respetándose siempre los requisitos sobre la Protección de los datos y/o la ley equivalente aplicable.
- 4.- Usted tendrá acceso a sus datos personales y podrá exigir que se realicen correcciones justificables. Si desea hacerlo, deberá solicitarlo al médico encargado del estudio. Usted acepta posponer su acceso a sus datos médicos hasta la finalización del estudio, incluyendo el análisis y la comunicación de datos, en el caso de que el médico encargado del estudio lo estime necesario con el fin de proteger el objetivo y el transcurso del estudio.
- 5.- Representantes del Instituto Finlay o de la autoridad reguladora nacional podrán tener acceso a sus documentos médicos.

DERECHO A NEGARSE O ABANDONAR:

Su participación es voluntaria y puede negarse a participar, o retirarse del ensayo en cualquier momento sin reprensión de ninguna índole, y sin perder los beneficios derivados del estudio. El investigador tiene el derecho a retirarme del estudio en cualquier momento.

Usted puede abandonar el experimento si lo desea ahora o antes de tomar la cepa atenuada, o de reto, pero una vez que las tome tendrá que permanecer en esa instalación hasta que se demuestre que usted no excreta más bacterias.

PREGUNTAS Y RESPUESTAS:

Si tiene alguna pregunta sobre la disponibilidad de la asistencia médica, sobre sus derechos como voluntario, o si piensa haber contraído una enfermedad o haber sufrido daño relacionado con el estudio, contacte a:

Nombre del investigador: Dr. Manuel Díaz Jidy, Jefe de Servicio de Hospitalización.

Dirección del Investigador: Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri"

Número de teléfono del Investigador: 2020451

LO MÁS IMPORTANTE PARA TODO EL EQUIPO MÉDICO Y DE INVESTIGACIÓN EN ESTE ENSAYO CLÍNICO ES SU SALUD

17

ACTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Los objetivos y procedimientos del estudio me han sido explicados claramente. he leído la información precedente y he entendido la información facilitada. Acepto participar en el estudio. Sé que tengo el derecho de negarme a participar en el estudio y de retirarme en cualquier momento por cualquier razón que sea, sin que esto tenga consecuencias para la atención y asistencia médica actual o futura. Acuso recibo de una copia de este documento para futuras referencias.

Yo, _____
(nombre(s) y apellidos del voluntario)

ACEPTO CON TODA LIBERTAD PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO.

No. Carné de identidad: _____

Firma del voluntario: _____

Usted tiene derecho a recibir una copia firmada de este documento.

Dirección del voluntario:

Número de teléfono del voluntario: _____

Fecha: _____ Hora: _____
(dd/mm/aa)

Testigo: _____

Declaración del médico, el(la) enfermera(a) o el asistente de proyecto que llevó a cabo la entrevista sobre el consentimiento informado:

He explicado cuidadosamente el carácter, las exigencias y los riesgos y beneficios previsibles del estudio de vacunación a la persona arriba mencionada y estuve presente cuando ésta llenó el documento de consentimiento informado.

Nombre: _____

Firma: _____

Cargo: _____

Fecha: _____ Hora: _____
(dd/mm/aa)

El contenido del documento deberá comentarse oralmente con el voluntario. Una copia de este documento debe entregarse en su totalidad al voluntario; no podrán omitirse páginas ni secciones y consta de 5 páginas.



CONFIDENCIAL

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

Cólera

Instituto Finlay

Ave. 27 No 19805, La Coronela. La Lisa

Ciudad de la Habana, Cuba

Telf. (537) 28 6086, 28 0986

Fax: (537) 28 6075

INSTRUCCIONES GENERALES

Escriba con claridad en **MAYÚSCULAS** empleando una pluma o un bolígrafo escriba con firmeza para que se puedan leer todas las copias. Ponga el número del sujeto en todas las páginas y responda a todas las preguntas salvo que se indique lo contrario.

No escriba las partes sombreadas señaladas con **Para IF**. La información que se escriba en estas partes **no es responsabilidad del investigador**.

Con respecto a las **INICIALES** de cada sujeto, ponga las dos primeras letras del nombre y la primera letra de cada apellido. en caso de nombre compuesto, las iniciales del segundo nombre no se recogen.

ABREVIATURAS: no se deben utilizar abreviaturas para las enfermedades médicas, los acontecimientos clínicos o los nombres de los medicamentos. Pueden abreviarse las unidades y las vías de administración de la medicación. NP: no procede.

IMPORTANTE: los errores deben tacharse con una sola línea y hay que poner la corrección tan cerca del original como sea posible.

El investigador o el personal autorizado deben escribir las correcciones con letra de imprenta, añadiendo sus iniciales y la fecha

FECHA

Utilice las siguientes abreviaturas de tres letras para cada mes

Enero	=	ENE
Febrero	=	FEB
Marzo	=	MAR
Abril	=	ABR
Mayo	=	MAY
Junio	=	JUN
Julio	=	JUL
Agosto	=	AGO
Septiembre	=	SEP
Octubre	=	OCT
Noviembre	=	NOV
Diciembre	=	DIC

Ejemplo: $\frac{|0|1|}{\text{día}} \frac{|E|N|E|}{\text{mes}} \frac{|2|0|0|0|}{\text{año}} = 1 \text{ de enero de } 2000$

HORA

Salvo que se indique lo contrario, utilice el reloj de 24 horas:

Ejemplo: $\frac{|1|5|}{\text{horas}} : \frac{|3|0|}{\text{min}} = 15.30 \text{ horas}$

La sección de **medicación**, la sección de **vacunación concomitante**, la sección de acontecimientos **adversos no graves** y el formulario de **acontecimientos adversos graves (AAG)** deben examinarse con miras a la evaluación final al término del estudio.

Rellene el formulario **conclusión del estudio** de todos los sujetos inscritos.

DEFINICIONES DE LOS ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS ESPERADOS

Consistencia de las heces fecales

- Grado 1 : Firme
- Grado 2 : Suave
- Grado 3 : Prácticamente líquida
- Grado 4 : Acuosa de color opaco
- Grado 5 : Agua de arroz

Definición de diarreas: Deposiciones de consistencia grados 3-5, que totalicen 200g o más en 48 horas, o una de esa consistencia que totalice 300g.

Diarrea

- 0 : Ausente
- 1 : Ligera: Menor de 3 Kg
- 2 : Moderada: De 3 a 5 Kg.
- 3 : Severa: Mayor de 5 Kg

Cefalea

- 0 : Ausente
- 1 : Ligera: cefalea que se tolera con facilidad
- 2 : Moderada: cefalea que interfiere en la actividad normal.
- 3 : Severa: cefalea que impide la actividad normal

Dolor abdominal

- 0 : Ausente
- 1 : Ligero: dolor abdominal que se tolera con facilidad
- 2 : Moderado: dolor abdominal que interfiere en la actividad normal
- 3 : Severo: dolor abdominal que impide la actividad normal

Vómitos

- 0 : Ausente
- 1 : Ligero: menos de dos y no produce deshidratación
- 2 : Moderado: más de dos y causa estado de deshidratación ligera
- 3 : Severo: más de dos y lleva a una deshidratación grado 3

Deshidratación

- 0 : Ausente
- 1 : Ligera: (sed) pérdida de 1500 mLxm² de superficie corporal
- 2 : Moderada: (sed, boca seca, oliguria) pérdida de 2400mLxm² de superficie corporal
- 3 : Severa: (convulsiones, delirio, intranquilidad) pérdida de más de 3000 mLxm² de superficie corporal

Náuseas

- 0 : Ausente
- 1 : Ligera: náuseas que se toleran con facilidad
- 2 : Moderada: náuseas que interfieren en la actividad normal
- 3 : Severa: náuseas que precede al vómito

Malestar general

- 0 : Ausente
- 1 : Ligero: malestar general que se tolera con facilidad
- 2 : Moderado: malestar general que interfiere en la actividad normal
- 3 : Severo: malestar general que impide la actividad normal

Meteorismo

- 0 : Ausente
- 1 : Ligero: meteorismo que se tolera con facilidad
- 2 : Moderado: meteorismo que interfiere en la actividad normal
- 3 : Severo: meteorismo que impide la actividad normal

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS NO ESPERADOS

- 0 : No ha habido acontecimiento adverso
- 1 : Ligero: acontecimiento adverso que el sujeto tolera bien, causa mínimas molestias y no interfiere en las actividades cotidianas
- 2 : Moderado: acontecimiento adverso que es suficientemente molesto para interferir en las actividades cotidianas
- 3 : Severo: acontecimiento adverso que impide las actividades cotidianas

(En adultos y adolescentes, un acontecimiento adverso de este tipo impediría, por ejemplo, ir al trabajo o al colegio y necesitaría la administración de un tratamiento corrector)

DEFINICIONES DE LOS ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

CAUSALIDAD

En su opinión ¿ es posible que la vacuna haya contribuido al acontecimiento adverso?

NO : el acontecimiento adverso no está relacionado causalmente con la administración de la vacuna o vacunas del estudio. Existen otras causas más probables y no se piensa que la administración de la vacuna o vacunas del estudio hayan contribuido al acontecimiento adverso

SÍ : existe una posibilidad razonable de que el inóculo haya contribuido al acontecimiento adverso

DESENLACE

- 1 : recuperación
- 2 : recuperación con secuelas
- 3 : persistencia cuando el sujeto concluye el estudio
- 4 : muerte
- 5 : desconocido

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS GRAVES

Un acontecimiento adverso grave es cualquier experiencia médica adversa que:

- 1: provoca la muerte
- 2: pone en peligro la vida
- 3: produce una discapacidad o incapacidad persistente o significativa
- 4: requiere la hospitalización del paciente
- 5: prolonga la estancia hospitalaria
- 6: corresponde a una anomalía congénita o un defecto de nacimiento en la descendencia de un sujeto del estudio
- 7: además, deben considerarse graves los acontecimientos médicos importantes que pongan en peligro al paciente o requieran intervenciones para impedir alguno de los desenlaces mencionados anteriormente. (Entre los ejemplos de tales acontecimientos cabe citar el tratamiento intensivo en un servicio de urgencias o en el domicilio por broncoespasmo alérgico, las discrasias sanguíneas o las convulsiones que no motivan la hospitalización o el desarrollo de drogadependencia o abuso de sustancias).

Para acontecimiento adverso grave, rellene el formulario de acontecimiento adverso grave (AAG) y póngase en contacto con el Instituto Finlay en un plazo de 24 horas (un día natural).

Aunque no se consideren como "acontecimientos adversos graves", los cánceres deben notificarse de la misma forma que este tipo de acontecimientos.

VISITA 1
Pre-ingreso de
inoculación

**Se debe obtener el consentimiento
informado antes de cualquier
procedimiento del estudio**

LISTA DE ELEGIBILIDAD**CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Todos los sujetos inscritos deben satisfacer los criterios siguientes al incorporarse al estudio:

Marque en las casillas de la derecha si cumple o no el criterio

- | | No | Sí |
|--|--------------------------|--------------------------|
| 1. Hombre sano de 18 a 40 años de edad | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. Buen estado de salud física y mental establecido por criterio médico mediante examen físico, de laboratorio y test psicométrico antes de comenzar el estudio. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. Voluntariedad expresa mediante consentimiento informado escrito | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se comprobarán los siguientes criterios al incorporarse al estudio. Si cualquiera de ellos es aplicable, no se incluirá al sujeto en el estudio:

- | | | |
|---|--------------------------|--------------------------|
| 4. Antecedentes de inmunodeficiencia | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. Antecedentes de enfermedad cardiovascular, respiratoria, renal, hepática, gastrointestinal, neurológica, desorden endocrino, psiquiátrico, o del sistema reticuloendotelial referidos por el voluntario durante el examen clínico o detectados en los exámenes de laboratorio. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 6. Alergia a las tetraciclinas. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 7. Historia previa de vacunación o reto con cólera (aplicable a la Parte I) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8. Historia de terapia con antibióticos o gammaglobulinas durante los 30 días anteriores a la inoculación. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 9. Ensayo para anticuerpos HIV-1-2 positivo. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 10. Positivo al antígeno de superficie de la hepatitis B o a anticuerpos contra hepatitis A y C | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 11. Coprocultivo positivo para patógenos entéricos. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 12. Estar bajo tratamiento inmunosupresivo (más de 14 días) u otro tipo de medicamento que modifique el estado inmunológico, excluyendo los esteroides tópicos o por inhalación. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 13. Administración de una vacuna no prevista en el Protocolo, 30 días antes o después de la aplicación del producto en estudio. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 14. Presencia de enfermedad aguda severa o moderada (con o sin fiebre) en el momento de su incorporación al estudio. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 15. No aprobar el examen escrito de comprobación de conocimientos sobre el tema. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

LISTA DE ELEGIBILIDAD

CRITERIOS DE SALIDA DURANTE EL ESTUDIO

1. Uso de algún medicamento o vacuna experimental no registrada desde 30 días antes del inicio del estudio y durante su desarrollo.
2. Administración por más de 14 días de inmunosupresores o de otras drogas que modifiquen el sistema inmune durante el período de estudio. Se excluyen los esteroides tópicos o por inhalación.
3. Administración de una vacuna no prevista en el Protocolo, durante la aplicación del producto en estudio.
4. Administración de inmunoglobulinas y/o productos derivados de la sangre durante el período de estudio .

Protocolo	Visita	Fecha	Número de sujeto
Cólera 002	VISITA 1	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 80px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; font-size: small;"> día mes año </div>	<div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div>

Certifico que se ha obtenido el consentimiento informado antes de cualquier procedimiento del estudio.

Fecha del consentimiento informado:

día
mes
año

DATOS DEMOGRÁFICOS

Iniciales del sujeto:

1^{er} nombre
1^{er} apellido
2^{do} apellido

Fecha de nacimiento:

día
mes
año

Sexo: Varón
 Mujer

Raza: (BL) Blanca
 (NE) Negra
 (ME) Mestizo

Peso: Kg

¿Es elegible el sujeto para el estudio según los criterios especificados?

- Sí
 No, ponga el número(s) del criterio o criterios correspondientes

Protocolo	Visita	Número de sujeto
Cólera 002	VISITA 1	_____

HISTORIA CLÍNICA GENERAL / EXPLORACIÓN FÍSICA

¿Sabe si el sujeto presenta trastornos o signos y síntomas antes de iniciar el estudio?

No

Sí, por favor marque la casilla o casillas adecuadas de acuerdo al sistema y a la actualidad, y escriba el diagnóstico

		ANTIGUOS	ACTUALES	DIAGNÓSTICO
10	Cutáneos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
5	Oculares	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
6	Otorrinolaringológicos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
2	Cardiovasculares	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
3	Respiratorios	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
1	Gastrointestinales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
7	Musculoesqueléticos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
8	Neurológicos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
12	Genitourinarios	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
11	Hematológicos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
4	Alérgicos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
9	Endocrinos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____
99	Otros (especifique)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 _____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2 _____

Notifique la medicación como se especifica en el protocolo y rellene la sección de medicación.

Protocolo				Número de sujeto
Cólera 002				

ANÁLISIS DE LABORATORIO

MUESTRA DE SANGRE

¿Se ha extraído una muestra de sangre? No Sí Fecha de extracción de sangre: día mes año

MUESTRA DE ORINA

¿Se ha recogido una muestra de orina? No Sí Fecha de recogida de muestra de orina: día mes año

MUESTRA DE HECES FECALES

¿Se ha recogido una muestra de heces fecales? No Sí Fecha de recogida de muestra de heces fecales: día mes año

Hematología					
Parámetro	Unidades	Valor normal	Fecha	Resultados	Significación
Hemoglobina	.g/L	110-160			
Hematocrito	U	0.37-0.50			
Leucocitos	10 ⁹ /l	5-10			
Poliforfonucleares	%				
Linfocitos	%				
Monocitos	%				
Eosinófilos	%				
ST	%				
Hemo-Química					
Eritrosedimentación	.ml/hora	8-10			
T.G.O.	U/L	0-38			
T.G.P.	U/L	0-40			
Glicemia	Mmo/L	4.22-6.11			
Creatinina	mol/L	44-97			
Serología					
V.D.R.L.		No reactivo			
Ac. Hepatitis A		Negativo			
Ac. Hepatitis C		Negativo			
Ac. Sup. Hepatitis B		Negativo			
VIH		Negativo			
Otros				Fecha	Significación
Heces fécales. Directo. Resultado					
Coprocultivo	Aislamiento				
Parcial de orina	Resultado				
Grupo sanguíneo	Resultado				
Factor Rh	Resultado				

¿Es elegible el sujeto para ser incluido en el ensayo desde el punto de vista de laboratorio clínico? No Sí

Significación clínica

- 1: Normal
- 2: Fuera de rango sin importancia
- 3: Fuera de rango con importancia clínica
- 4: No realizado

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____

PRIMER INGRESO

Etapa de Inoculación

Protocolo	Ingreso	Cama	Fecha			Número de sujeto
Cólera 002		_____	_____ _____ día	_____ _____ mes	_____ _____ _____ _____ año	_____ _____ _____ _____

ADMINISTRACIÓN DEL INÓCULO

Rellene la tabla siguiente

ADMINISTRACIÓN DEL INÓCULO (sólo se debe marcar una casilla)	Vía	¿Se ha administrado el inóculo según el protocolo?
<input type="checkbox"/> Inóculo <input type="checkbox"/> Número de vial equivocado (*) <input type="checkbox"/> No administrado (*)	oral	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No

(*) Comentarios: _____

OBSERVACIÓN POSTINOCULACIÓN

Si se producen **acontecimientos adversos** durante el período postinoculación inmediato especificado en el protocolo,
 → rellene **la sección de acontecimientos adversos esperados, la sección de acontecimientos adversos no graves o el formulario de acontecimientos adversos graves.**

MEDICACIÓN

Si se ha administrado cualquier medicación **profiláctica** pensando en posibles reacciones del inóculo del estudio,
 → rellene la **sección de medicación**



Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

VERIFICACIÓN DE LA CALIDAD DEL INÓCULO

Pruebas de Identidad

Positivo

Negativo

Concentración final del inóculo: _____ **ufc**

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____

Fecha de realización:

día	mes

año			

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES

¿Ha experimentado el sujeto alguno de los siguientes signos y síntomas generales durante el período solicitado?

- Desconocido
- No
- Sí, marque No/Sí para cada síntoma. Si marca Sí rellene la línea completa

SÍNTOMAS GENERALES	Toma antes de Inoculación	Día 1				Día 2			
		6 h	12 h	18 h	24 h	6 h	12 h	18 h	24 h
Temperatura <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> Axilar	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Cefalea <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Nauseas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Dolor abdominal <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Malestar general <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Meteorismo <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Tensión Arterial TA sistólica TA diastólica	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Pulso	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____

Intensidad: 0
1
2
3

→ Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo comuníquelo al monitor del IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama	
Cólera 002		_____	_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES
(continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	Día 3			Día 4			Día 5		
	8 h	16 h	24 h	8 h	16 h	24 h	8 h	16 h	24 h
Temperatura <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> Axilar	— . —	— . —	— . —	— . —	— . —	— . —	— . —	— . —	— . —
	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada
Cefalea <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Nauseas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Dolor abdominal <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Malestar general <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Meteorismo <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Tensión Arterial TA sistólica TA diastólica	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Pulso	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____

Intensidad: 0
1
2
3

→ Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo
 → comuníquese al monitor del IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas
 (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES (continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
Temperatura <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> Axilar	____	____	____	____
Cefalea <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____
Nauseas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____
Dolor abdominal <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____
Malestar general <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____
Meteorismo <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____
Tensión Arterial TA sistólica TA diastólica	_____ _____	_____ _____	_____ _____	_____ _____
Pulso	_____	_____	_____	_____

Intensidad: 0
1
2
3

→ Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo
 → comuníquelo al monitor del IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas
 (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES
(continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	Toma antes de la Inoculación	Día 1												
		1era	2da	3era	4ta	5ta	6ta	7ma	8va	9na	10mo	11no	12vo	13va
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	Volumen	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	→ intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	Peso	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	→ intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	
→ grado:	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	
		Día 2												
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	Volumen	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	→ intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	Peso	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	→ intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	
→ grado:	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	
		Día 3												
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	Volumen	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	→ intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	Peso	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	→ intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	
→ grado:	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	

Intensidad:
0
1
2
3

→
→

Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo comunique el acontecimiento al monitor de I IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES
(continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	Día 4												
	1era	2da	3era	4ta	5ta	6ta	7ma	8va	9na	10mo	11no	12vo	13va
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Volumen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Peso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	Día 5												
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Volumen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Peso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
	Día 6												
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Volumen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Peso	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□
		□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□	□

Intensidad: 0
1
2
3

→ Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo-comunique el acontecimiento al monitor de I IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES
(continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	Día 7												
	1era	2da	3era	4ta	5ta	6ta	7ma	8va	9na	10mo	11no	12vo	13va
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Volumen → intensidad:	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Peso → intensidad: → grado:	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Día 8													
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Volumen → intensidad:	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Peso → intensidad: → grado:	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Día 9													
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Volumen → intensidad:	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Peso → intensidad: → grado:	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Intensidad: 0
1
2
3

→ Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo-comunique el acontecimiento al monitor de I IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES
(continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	7 Días de Observación						
	1era	2da	3era	4ta	5ta	6ta	7ma
Diarreas							
<input type="checkbox"/> No Hora	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Si Peso	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
→ intensidad:	□	□	□	□	□	□	□

Intensidad: 0
1
2
3

→ Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo comunique el acontecimiento al monitor del IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ANÁLISIS DE LABORATORIO

MUESTRA DE SANGRE

¿Se ha extraído una muestra de sangre? No
 Sí

Fecha de extracción de sangre: día mes año

Hematología					
Parámetro	Unidades	Valor normal	Fecha	Resultados	Significación
Hemoglobina	.g/L	110-160			
Hematocrito	U	0.37-0.50			
Leucocitos	10 ⁹ /l	5-10			
Polifonucleares	%				
Linfocitos	%				
Monocitos	%				
Eosinófilos	%				
ST	%				
Hemo-Química					
Eritrosedimentación	.ml/hora	8-10			
T.G.O.	U/L	0-38			
T.G.P.	U/L	0-40			
Glicemia	Mmo/L	4.22-6.11			
Creatinina	mo/L	44-97			

Significación clínica

- 1: Normal
- 2: Fuera de rango sin importancia
- 3: Fuera de rango con importancia clínica
- 4: No realizado

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____



Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

RESULTADOS DE PRUEBAS BACTERIOLOGICAS

Coprocultivos antes de la administración del antibiótico	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Muestra de heces fecales	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí
→ Aislamiento e Identificación de <i>Vibrio cholerae</i>	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí
Cuantificación de <i>Vibrio cholerae</i> x g de muestra	_____	_____	_____	_____	_____

→

Coprocultivos después de la administración del antibiótico	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
Muestra de heces fecales	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí
→ Aislamiento e Identificación de <i>Vibrio cholerae</i> →	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____



Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

RESULTADOS DE INMUNOGENICIDAD

Pruebas de Inmunogenicidad	Toma previa	Día 7	Día 9	Nombre del Técnico de Laboratorio
Muestra de sangre →	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí		
Título anti-LPS¹				
Isotipo IgG	_____	_____		_____
IgM	_____	_____		_____
IgA	_____	_____		_____
Título vibriocida²	_____	_____		_____
CFA x 10⁶ ³				
Isotipo IgG	_____	_____		_____
IgM	_____	_____		_____
IgA	_____	_____		_____
Muestra de saliva →	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí		<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	
Título IgA anti-LPS⁴	_____		_____	_____

1 Logaritmo de la dilución interpolada que alcanza un valor de Densidad Óptica de 0.4

2 Inverso de la mayor dilución del suero que provoca el 100% de la inhibición del crecimiento

3 Número de "spots" positivos por 10⁶ CFA

Seroconversión: El número de spots del día 7 sea igual o mayor que 2 si el número de spots positivos en preinoculación es 1 ó 0. Si el número de spots positivos en preinoculación es igual o mayor que 2 se considerará seroconversión si el número

4 Los títulos se miden en Densidades Ópticas

Seroconversión: Los valores alcanzados en el día 9 deberán ser el doble del título de preinoculación, siempre que éste



VISITA 2

RECORDATORIO

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Compruebe todos los criterios apropiados antes de proseguir la visita.

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

- Notifique los acontecimientos adversos como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **acontecimientos adversos no graves** o el formulario de **acontecimientos adversos graves (AAG)**, según sea oportuno.

MEDICACIÓN

- Notifique la medicación como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **medicación**.
- Notifique la vacunación concomitante en la sección de **vacunación concomitante**.

Protocolo				Número de sujeto
Cólera 002				_____

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS

- 0** : No ha habido acontecimiento adverso
 - 1** : Ligero: acontecimiento adverso que el sujeto tolera bien, causa mínimas molestias y no interfiere en las actividades cotidianas
 - 2** : Moderado: acontecimiento adverso que es suficientemente molesto para interferir en las actividades cotidianas
 - 3** : Severo: acontecimiento adverso que impide las actividades cotidianas
- (En adultos y adolescentes, un acontecimiento adverso de este tipo impediría, por ejemplo, ir al trabajo o al colegio y necesitaría la administración de un tratamiento corrector)

AANº	AA. 1	AA. 2	AA. 3
Descripción	_____ _____	_____ _____	_____ _____
Para IF			
Fecha de comienzo	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: small;"> día mes año </div> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: small;"> día mes año </div> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: small;"> día mes año </div> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo
Fecha de finalización	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: small;"> día mes año </div>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: small;"> día mes año </div>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: small;"> día mes año </div>
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí especifique el tipo: HO: hospitalización SU: servicio de urgencia CM: consulta del médico	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → _____	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → _____	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → _____
Causalidad En su opinión ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido

Protocolo			Número de sujeto
Cólera 002			_____

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS

- 0** : No ha habido acontecimiento adverso
 - 1** : Ligero: acontecimiento adverso que el sujeto tolera bien, causa mínimas molestias y no interfiere en las actividades cotidianas
 - 2** : Moderado: acontecimiento adverso que es suficientemente molesto para interferir en las actividades cotidianas
 - 3** : Severo: acontecimiento adverso que impide las actividades cotidianas
- (En adultos y adolescentes, un acontecimiento adverso de este tipo impediría, por ejemplo, ir al trabajo o al colegio y necesitaría la administración de un tratamiento corrector)

AANº	AA. 4	AA. 5	AA. 6
Descripción	_____	_____	_____
Para IF			
Fecha de comienzo	_____ día mes año <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	_____ día mes año <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	_____ día mes año <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo
Fecha de finalización	_____ día mes año	_____ día mes año	_____ día mes año
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí especifique el tipo: HO: hospitalización SU: servicio de urgencia CM: consulta del médico	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → _____	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → _____	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → _____
Causalidad En su opinión ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido

Protocolo				Número de sujeto							
Cólera 002		VISITA 2		<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>							

ANÁLISIS DE LABORATORIO

MUESTRA DE SANGRE

¿Se ha extraído una muestra de sangre? No
 Sí

Fecha de extracción de sangre:

día		mes			año			

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS EN SUERO

Título anti-LPS¹	Isotipo	IgG	_____
		IgM	_____
		IgA³	_____

Fecha de realización :

día		mes			año			

1 Logaritmo de la dilución interpolada que alcanza un valor de Densidad Óptica de 0.4
 Seroconversión 2 títulos de incrementos en la relación de los títulos del día 14 y del día 0

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____

Título vibriocida² _____

Fecha de realización:

día		mes			año			

2 Inverso de la mayor dilución del suero que provoca el 100% de la inhibición del crecimiento
 Seroconversión 4 títulos de incrementos en la relación de los títulos del día 14 y del día 0

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____



VISITA 3
Preingreso de Reto

RECORDATORIO

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Compruebe todos los criterios apropiados antes de proseguir la visita.

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

- Notifique los acontecimientos adversos como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **acontecimientos adversos no graves** o el formulario de **acontecimientos adversos graves (AAG)**, según sea oportuno.

MEDICACIÓN

- Notifique la medicación como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **medicación**.
- Notifique la vacunación concomitante en la sección de **vacunación concomitante**.

Protocolo				Número de sujeto										
Cólera 002				<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> </table>										

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS

- 0** : No ha habido acontecimiento adverso
1 : Ligero: acontecimiento adverso que el sujeto tolera bien, causa mínimas molestias y no interfiere en las actividades cotidianas
2 : Moderado: acontecimiento adverso que es suficientemente molesto para interferir en las actividades cotidianas
3 : Severo: acontecimiento adverso que impide las actividades cotidianas
 (En adultos y adolescentes, un acontecimiento adverso de este tipo impediría, por ejemplo, ir al trabajo o al colegio y necesitaría la administración de un tratamiento corrector)

AANº	AA. 1	AA. 2	AA. 3																																				
Descripción	_____	_____	_____																																				
Para IF																																							
Fecha de comienzo	<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo							día	mes	año				<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo							día	mes	año				<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo							día	mes	año			
día	mes	año																																					
día	mes	año																																					
día	mes	año																																					
Fecha de finalización	<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>							día	mes	año				<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>							día	mes	año				<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>							día	mes	año			
día	mes	año																																					
día	mes	año																																					
día	mes	año																																					
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3																																				
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí especifique el tipo: HO: hospitalización SU: servicio de urgencia CM: consulta del médico	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>			<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>			<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>																																
Causalidad En su opinión ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																																				
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido																																				

Protocolo			Número de sujeto
Cólera 002			_____

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS

- 0** : No ha habido acontecimiento adverso
 - 1** : Ligero: acontecimiento adverso que el sujeto tolera bien, causa mínimas molestias y no interfiere en las actividades cotidianas
 - 2** : Moderado: acontecimiento adverso que es suficientemente molesto para interferir en las actividades cotidianas
 - 3** : Severo: acontecimiento adverso que impide las actividades cotidianas
- (En adultos y adolescentes, un acontecimiento adverso de este tipo impediría, por ejemplo, ir al trabajo o al colegio y necesitaría la administración de un tratamiento corrector)

AANº	AA.4	AA.5	AA.6																		
Descripción	_____ _____	_____ _____	_____ _____																		
Para IF																					
Fecha de comienzo	<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	__	__	__	día	mes	año	<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	__	__	__	día	mes	año	<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	__	__	__	día	mes	año
__	__	__																			
día	mes	año																			
__	__	__																			
día	mes	año																			
__	__	__																			
día	mes	año																			
Fecha de finalización	<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td> </tr> </table>	__	__	__	día	mes	año	<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td> </tr> </table>	__	__	__	día	mes	año	<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td> </tr> </table>	__	__	__	día	mes	año
__	__	__																			
día	mes	año																			
__	__	__																			
día	mes	año																			
__	__	__																			
día	mes	año																			
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3																		
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí especifique el tipo: HO: hospitalización SU: servicio de urgencia CM: consulta del médico	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → __ __	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → __ __	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → __ __																		
Causalidad En su opinión ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																		
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido																		

Protocolo		Visita	Visita	Número de sujeto						
Cólera 002		VISITA 3	<table border="0"> <tr> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	día	mes	año	<input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
día	mes	año								

HISTORIA CLÍNICA GENERAL / EXPLORACIÓN FÍSICA

¿Sabe si el sujeto presenta trastornos o signos y síntomas antes de iniciar el reto?

No

Sí, por favor marque la casilla o casillas adecuadas y ponga el diagnóstico

			ACTUALES	DIAGNÓSTICO
10	Cutáneos	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
5	Oculares	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
6	Otorrinolaringológicos	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
2	Cardiovasculares	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
3	Respiratorios	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
1	Gastrointestinales	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
7	Musculoesqueléticos	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
8	Neurológicos	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
12	Genitourinarios	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
11	Hematológicos	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
4	Alérgicos	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
9	Endocrinos	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	
99	Otros (especifique)	<input type="checkbox"/>	1 _____	
		<input type="checkbox"/>	2 _____	

Notifique la medicación como se especifica en el protocolo y rellene la sección de medicación.

Protocolo				Número de sujeto
Cólera 002				_____

ANÁLISIS DE LABORATORIO

MUESTRA DE SANGRE

¿Se ha extraído una muestra de sangre? No Sí Fecha de extracción de sangre: _____
 día mes año

MUESTRA DE ORINA

¿Se ha recogido una muestra de orina? No Sí Fecha de recogida de muestra de orina: _____
 día mes año

MUESTRA DE HECES FECALES

¿Se ha recogido una muestra de heces fecales? No Sí Fecha de recogida de muestra de heces fecales: _____
 día mes año

Hematología					
Parámetro	Unidades	Valor normal	Fecha	Resultados	Significación
Hemoglobina	.g/L	110-160			
Hematocrito	U	0.37-0.50			
Leucocitos	10 ⁹ /l	5-10			
Polifórmonulares	%				
Linfocitos	%				
Monocitos	%				
Eosinófilos	%				
ST	%				
Hemo-Química					
Eritrosedimentación	.ml/hora	8-10			
T.G.O.	U/L	0-38			
T.G.P.	U/L	0-40			
Glicemia	Mmol/L	4-22-6.11			
Creatinina	mol/L	44-97			
Otros			Fecha	Significación	
Heces fécales. Directo. Resultados					
Coprocultivo	Aislamiento				
Parcial de orina	Resultado				

¿Está apto el sujeto para continuar el estudio? No Sí

Significación clínica

- 1: Normal
- 2: Fuera de rango sin importancia
- 3: Fuera de rango con importancia clínica
- 4: No realizado

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____



Protocolo	Ingreso	Cama	Fecha			Número de sujeto
Cólera 002		_____	_____ _____ día	_____ _____ mes	_____ _____ _____ _____ año	_____ _____ _____ _____

ADMINISTRACIÓN DEL INÓCULO

Rellene la tabla siguiente

ADMINISTRACIÓN DEL INÓCULO (sólo se debe marcar una casilla)	Vía	¿Se ha administrado el inóculo según el protocolo?
<input type="checkbox"/> Inóculo <input type="checkbox"/> Número de vial equivocado (*) <input type="checkbox"/> No administrado (*)	oral	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No

(*) Comentarios: _____

OBSERVACIÓN POSTINOCULACIÓN

Si se producen **acontecimientos adversos** durante el período postinoculación inmediato especificado en el protocolo,
 → rellene **la sección de acontecimientos adversos esperados, la sección de acontecimientos adversos no graves o el formulario de acontecimientos adversos graves.**

MEDICACIÓN

Si se ha administrado cualquier medicación **profiláctica** pensando en posibles reacciones del inóculo del estudio,
 → rellene **la sección de medicación**



INSTITUTO FINLAY

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_ _ _ _ _

VERIFICACIÓN DE LA CALIDAD DEL INÓCULO

Pruebas de Identidad **Positivo** **Negativo**

Concentración final del inóculo: _____ **ufc**

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____

Fecha de realización: |_|_| |_|_| |_|_|_|_|
 día mes año

SEGUNDO INGRESO

Etapa de Reto

RECORDATORIO

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Compruebe todos los criterios apropiados antes de proseguir la visita.

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

- Notifique los acontecimientos adversos como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **acontecimientos adversos no graves** o el formulario de **acontecimientos adversos graves (AAG)**, según sea oportuno.

MEDICACIÓN

- Notifique la medicación como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **medicación**.
- Notifique la vacunación concomitante en la sección de **vacunación concomitante**.

CONTRAINDICACIONES

- Antes de administrar el inóculo, revise las **contraindicaciones** como se especifica en el protocolo.

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES

¿Ha experimentado el sujeto alguno de los siguientes signos y síntomas generales durante el período solicitado?

- Desconocido
- No
- Sí, marque No/Sí para cada síntoma. Si marca Sí rellene la línea completa

SÍNTOMAS GENERALES	Toma antes de Inoculación	Día 1				Día 2			
		6 h	12 h	18 h	24 h	6 h	12 h	18 h	24 h
Temperatura <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
<input type="checkbox"/> Axilar	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada	<input type="checkbox"/> No tomada
Cefalea <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Nauseas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Dolor abdominal <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Malestar general <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Meteorismo <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Tensión Arterial TA sistólica TA diastólica	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Pulso	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____

Intensidad: 0
1
2
3

→ Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo comunique el acontecimiento al monitor del IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES
(continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	Día 3			Día 4			Día 5		
	8 h	16 h	24 h	8 h	16 h	24 h	8 h	16 h	24 h
Temperatura <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> Axilar	____	____	____	____	____	____	____	____	____
<input type="checkbox"/> No tomada <input type="checkbox"/> No tomada <input type="checkbox"/> No tomada <input type="checkbox"/> No tomada <input type="checkbox"/> No tomada <input type="checkbox"/> No tomada <input type="checkbox"/> No tomada <input type="checkbox"/> No tomada <input type="checkbox"/> No tomada									
Cefalea <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Nauseas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Dolor abdominal <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Malestar general <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Meteorismo <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	□	□	□	□	□	□	□	□	□
Tensión Arterial TA sistólica TA diastólica	____	____	____	____	____	____	____	____	____
Pulso	____	____	____	____	____	____	____	____	____

Intensidad: 0
1
2
3

→ Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo
 → comuníquese el acontecimiento al monitor del IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas
 (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES (continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
Temperatura <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> Axilar	____	____	____	____
Cefalea <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____
Nauseas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____
Dolor abdominal <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____
Malestar general <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____
Meteorismo <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí →intensidad:	_____	_____	_____	_____
Tensión Arterial TA sistólica TA diastólica	_____ _____	_____ _____	_____ _____	_____ _____
Pulso	_____	_____	_____	_____

Intensidad: 0
1
2
3

→ Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo
 → comuníquese al monitor del IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas
 (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES
(continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	Toma antes de la Inoculación	Día 1												
		1era	2da	3era	4ta	5ta	6ta	7ma	8va	9na	10mo	11no	12vo	13va
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	Volumen	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
	Peso	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		Día 2												
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
	Volumen	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
	Peso	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		Día 3												
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
	Volumen	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
	Peso	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Intensidad: 0
1
2
3

→
→

Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo comunique el acontecimiento al monitor de I IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES
(continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	Día 4												
	1era	2da	3era	4ta	5ta	6ta	7ma	8va	9na	10mo	11no	12vo	13va
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Volumen → intensidad:	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Peso → intensidad: → grado:	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Día 5												
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Volumen → intensidad:	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Peso → intensidad: → grado:	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Día 6												
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Volumen → intensidad:	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí Hora Peso → intensidad: → grado:	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Intensidad: 0
1
2
3

→ Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo comunique el acontecimiento al monitor de I IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES
(continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	Día 7												
	1era	2da	3era	4ta	5ta	6ta	7ma	8va	9na	10mo	11no	12vo	13va
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	Volumen	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	Peso	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Día 8													
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	Volumen	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	Peso	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Día 9													
Vómitos <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	Volumen	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Diarreas <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí → intensidad: → grado:	Hora	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	Peso	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Intensidad: 0
1
2
3

→
→

Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo comunique el acontecimiento al monitor de I IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto								
Cólera 002		_____		<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>								

ACONTECIMIENTO ADVERSO ESPERADO - SÍNTOMAS GENERALES
(continuación)

SÍNTOMAS GENERALES	7 Días de Observación						
	1era	2da	3era	4ta	5ta	6ta	7ma
Diarreas							
<input type="checkbox"/> No Hora	—	—	—	—	—	—	—
<input type="checkbox"/> Si Peso	—	—	—	—	—	—	—
→ intensidad:	□	□	□	□	□	□	□

Intensidad: 0	→
1	→
2	
3	

Si cualquiera de estos acontecimientos adversos es grave según la definición del protocolo comunique el acontecimiento al monitor del IF por teléfono o fax en el plazo de 24 horas (véase el protocolo) y rellene el formulario de acontecimientos adversos graves

Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

ANÁLISIS DE LABORATORIO

MUESTRA DE SANGRE

¿Se ha extraído una muestra de sangre? No
 Sí

Fecha de extracción de sangre:
 día mes año

Hematología					
Parámetro	Unidades	Valor normal	Fecha	Resultados	Significación
Hemoglobina	.g/L	110-160			
Hematocrito	U	0.37-0.50			
Leucocitos	10 ⁹ /l	5-10			
Poliforfonuleares	%				
Linfocitos	%				
Monocitos	%				
Eosinófilos	%				
ST	%				
Hemo-Química					
Eritrosedimentación	.ml/hora	8-10			
T.G.O.	U/L	0-38			
T.G.P.	U/L	0-40			
Glicemia	Mmo/L	4.22-6.11			
Creatinina	mo/L	44-97			

Significación clínica

- 1: Normal
- 2: Fuera de rango sin importancia
- 3: Fuera de rango con importancia clínica
- 4: No realizado

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____



Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

RESULTADOS DE PRUEBAS BACTERIOLOGICAS

Coprocultivos antes de la administración del antibiótico	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Muestra de heces fecales	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí
→ Aislamiento e Identificación de <i>Vibrio cholerae</i>	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí
Cuantificación de <i>Vibrio cholerae</i> x g de muestra	_____	_____	_____	_____	_____

→

Coprocultivos después de la administración del antibiótico	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
Muestra de heces fecales	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí
→ Aislamiento e Identificación de <i>Vibrio cholerae</i> →	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____



Protocolo		Cama		Número de sujeto
Cólera 002		_____		_____

RESULTADOS DE INMUNOGENICIDAD

Pruebas de Inmunogenicidad	Toma previa	Día 7	Día 9	Nombre del Técnico de Laboratorio
Muestra de sangre →	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí		
Título anti-LPS¹				
Isotipo IgG	_____	_____		_____
IgM	_____	_____		
IgA	_____	_____		_____
Título anti-CTB²				
Isotipo IgG	_____	_____		_____
IgM	_____	_____		
IgA	_____	_____		_____
Título vibriocida³	_____	_____		_____
CFA x 10⁶⁴				
Isotipo IgG	_____	_____		_____
IgM	_____	_____		
IgA	_____	_____		_____
Muestra de saliva →	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí		<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	_____
Título IgA anti-LPS⁵	_____		_____	_____

1 Logaritmo de la dilución interpolada que alcanza un valor de Densidad Óptica de 0.4

2 Logaritmo de la dilución interpolada que alcanza un valor de Densidad Óptica de 0.4

3 Inverso de la mayor dilución del suero que provoca el 100% de la inhibición del crecimiento

4 Número de "spots" positivos por 10⁶ CFA

Seroconversión: El número de spots del día 7 sea igual o mayor que 2 si el número de spots positivos en preinoculación es 1 ó 0. Si el número de spots positivos en preinoculación es igual o mayor que 2 se considerará seroconversión si el número

5 Los títulos se miden en Densidades Ópticas

Seroconversión: Los valores alcanzados en el día 9 deberán ser el doble del título de preinoculación, siempre que

VISITA 4

RECORDATORIO

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Compruebe todos los criterios apropiados antes de proseguir la visita.

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

- Notifique los acontecimientos adversos como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **acontecimientos adversos no graves** o el formulario de **acontecimientos adversos graves (AAG)**, según sea oportuno.

MEDICACIÓN

- Notifique la medicación como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **medicación**.
- Notifique la vacunación concomitante en la sección de **vacunación concomitante**.

Protocolo			Número de sujeto
Cólera 002			_____

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS

- 0** : No ha habido acontecimiento adverso
 - 1** : Ligero: acontecimiento adverso que el sujeto tolera bien, causa mínimas molestias y no interfiere en las actividades cotidianas
 - 2** : Moderado: acontecimiento adverso que es suficientemente molesto para interferir en las actividades cotidianas
 - 3** : Severo: acontecimiento adverso que impide las actividades cotidianas
- (En adultos y adolescentes, un acontecimiento adverso de este tipo impediría, por ejemplo, ir al trabajo o al colegio y necesitaría la administración de un tratamiento corrector)

AANº	AA. 1	AA. 2	AA. 3																		
Descripción	_____ _____	_____ _____	_____ _____																		
Para IF																					
Fecha de comienzo	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	_ _	_ _	_ _	día	mes	año	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	_ _	_ _	_ _	día	mes	año	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	_ _	_ _	_ _	día	mes	año
_ _	_ _	_ _																			
día	mes	año																			
_ _	_ _	_ _																			
día	mes	año																			
_ _	_ _	_ _																			
día	mes	año																			
Fecha de finalización	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> </tr> </table>	_ _	_ _	_ _	día	mes	año	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> </tr> </table>	_ _	_ _	_ _	día	mes	año	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> <td style="text-align: center;"> _ _ </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> </tr> </table>	_ _	_ _	_ _	día	mes	año
_ _	_ _	_ _																			
día	mes	año																			
_ _	_ _	_ _																			
día	mes	año																			
_ _	_ _	_ _																			
día	mes	año																			
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3																		
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí especifique el tipo: HO: hospitalización SU: servicio de urgencia CM: consulta del médico	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → _ _	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → _ _	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → _ _																		
Causalidad En su opinión ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																		
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido																		

Protocolo				Número de sujeto								
Cólera 002				<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> </table>								

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS

0 : No ha habido acontecimiento adverso

1 : Ligero: acontecimiento adverso que el sujeto tolera bien, causa mínimas molestias y no interfiere en las actividades cotidianas

2 : Moderado: acontecimiento adverso que es suficientemente molesto para interferir en las actividades cotidianas

3 : Severo: acontecimiento adverso que impide las actividades cotidianas

(En adultos y adolescentes, un acontecimiento adverso de este tipo impediría, por ejemplo, ir al trabajo o al colegio y necesitaría la administración de un tratamiento corrector)

AANº	AA. 4	AA. 5	AA. 6																																				
Descripción	_____	_____	_____																																				
Para IF																																							
Fecha de comienzo	<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo							día	mes	año				<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo							día	mes	año				<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo							día	mes	año			
día	mes	año																																					
día	mes	año																																					
día	mes	año																																					
Fecha de finalización	<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>							día	mes	año				<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>							día	mes	año				<table border="1"> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>							día	mes	año			
día	mes	año																																					
día	mes	año																																					
día	mes	año																																					
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3																																				
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí especifique el tipo: HO: hospitalización SU: servicio de urgencia CM: consulta del médico	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>			<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>			<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>																																
Causalidad En su opinión ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																																				
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido																																				

Protocolo				Número de sujeto
Cólera 002		VISITA 4		_____

ANÁLISIS DE LABORATORIO

MUESTRA DE SANGRE

¿Se ha extraído una muestra de sangre? No
 Sí

Fecha de extracción de sangre: _____|_____|_____|
 día mes año

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS EN SUERO

Título anti-LPS¹ **Isotipo** **IgG** _____

IgM _____

IgA _____

Fecha de realización : _____|_____|_____|
 día mes año

1 Logaritmo de la dilución interpolada que alcanza un valor de Densidad Óptica de 0.4
Seroconversión: 2 títulos de incrementos en la relación de los títulos del día 14 y del día 0

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____

Título anti-CTB² **Isotipo** **IgG** _____

IgM _____

IgA _____

Fecha de realización : _____|_____|_____|
 día mes año

2 Logaritmo de la dilución interpolada que alcanza un valor de Densidad Óptica de 0.4
Nombre del Técnico de Laboratorio: _____

Título vibriocida³ _____

Fecha de realización : _____|_____|_____|
 día mes año

3 Inverso de la mayor dilución del suero que provoca el 100% de la inhibición del crecimiento
Seroconversión: 4 títulos de incrementos en la relación de los títulos del día 14 y del día 0

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____

VISITA 5

RECORDATORIO

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Compruebe todos los criterios apropiados antes de proseguir la visita.

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

- Notifique los acontecimientos adversos como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **acontecimientos adversos no graves** o el formulario de **acontecimientos adversos graves (AAG)**, según sea oportuno.

MEDICACIÓN

- Notifique la medicación como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **medicación**.
- Notifique la vacunación concomitante en la sección de **vacunación concomitante**.

Protocolo				Número de sujeto								
Cólera 002				<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>								

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS

0 : No ha habido acontecimiento adverso

1 : Ligero: acontecimiento adverso que el sujeto tolera bien, causa mínimas molestias y no interfiere en las actividades cotidianas

2 : Moderado: acontecimiento adverso que es suficientemente molesto para interferir en las actividades cotidianas

3 : Severo: acontecimiento adverso que impide las actividades cotidianas

(En adultos y adolescentes, un acontecimiento adverso de este tipo impediría, por ejemplo, ir al trabajo o al colegio y necesitaría la administración de un tratamiento corrector)

AAN ^o	AA. 1	AA. 2	AA. 3																		
Descripción	_____	_____	_____																		
Para IF																					
Fecha de comienzo	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo				día	mes	año
día	mes	año																			
día	mes	año																			
día	mes	año																			
Fecha de finalización	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table>				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table>				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table>				día	mes	año
día	mes	año																			
día	mes	año																			
día	mes	año																			
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3																		
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí especifique el tipo: HO: hospitalización SU: servicio de urgencia CM: consulta del médico	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>			<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>			<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>														
Causalidad En su opinión ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																		
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido																		

Protocolo				Número de sujeto
Cólera 002				_____

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS

- 0** : No ha habido acontecimiento adverso
 - 1** : Ligero: acontecimiento adverso que el sujeto tolera bien, causa mínimas molestias y no interfiere en las actividades cotidianas
 - 2** : Moderado: acontecimiento adverso que es suficientemente molesto para interferir en las actividades cotidianas
 - 3** : Severo: acontecimiento adverso que impide las actividades cotidianas
- (En adultos y adolescentes, un acontecimiento adverso de este tipo impediría, por ejemplo, ir al trabajo o al colegio y necesitaría la administración de un tratamiento corrector)

AAN ^o	AA. 4	AA. 5	AA. 6																																				
Descripción	_____ _____	_____ _____	_____ _____																																				
Para IF																																							
Fecha de comienzo	<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	__	__	__	__	__	__	día	mes	año				<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	__	__	__	__	__	__	día	mes	año				<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo	__	__	__	__	__	__	día	mes	año			
__	__	__	__	__	__																																		
día	mes	año																																					
__	__	__	__	__	__																																		
día	mes	año																																					
__	__	__	__	__	__																																		
día	mes	año																																					
Fecha de finalización	<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>	__	__	__	__	__	__	día	mes	año				<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>	__	__	__	__	__	__	día	mes	año				<table border="0"> <tr> <td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td><td>__</td> </tr> <tr> <td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>	__	__	__	__	__	__	día	mes	año			
__	__	__	__	__	__																																		
día	mes	año																																					
__	__	__	__	__	__																																		
día	mes	año																																					
__	__	__	__	__	__																																		
día	mes	año																																					
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3																																				
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí especifique el tipo: HO: hospitalización SU: servicio de urgencia CM: consulta del médico	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → __ __	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → __ __	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → __ __																																				
Causalidad En su opinión ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																																				
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido																																				

Protocolo				Número de sujeto
Cólera 002		VISITA 5		_____

ANÁLISIS DE LABORATORIO

MUESTRA DE SANGRE

¿Se ha extraído una muestra de sangre? No
 Sí

Fecha de extracción de sangre: |_|_| |_|_|_| |_|_|_|
 día mes año

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS EN SUERO

Título anti-LPS¹ **Isotipo** **IgG** _____

IgM _____

IgA _____

Fecha de realización : |_|_| |_|_|_| |_|_|_|
 día mes año

1 Logaritmo de la dilución interpolada que alcanza un valor de Densidad Óptica de 0.4

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____

Título anti-CTB² **Isotipo** **IgG** _____

IgM _____

IgA _____

Fecha de realización : |_|_| |_|_|_| |_|_|_|
 día mes año

2 Logaritmo de la dilución interpolada que alcanza un valor de Densidad Óptica de 0.4

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____

Título vibriocida³ _____

Fecha de realización : |_|_| |_|_|_| |_|_|_|
 día mes año

3 Inverso de la mayor dilución del suero que provoca el 100% de la inhibición del crecimiento

Nombre del Técnico de Laboratorio: _____



VISITA 6

RECORDATORIO

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Compruebe todos los criterios apropiados antes de proseguir la visita.

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

- Notifique los acontecimientos adversos como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **acontecimientos adversos no graves** o el formulario de **acontecimientos adversos graves (AAG)**, según sea oportuno.

MEDICACIÓN

- Notifique la medicación como se ha especificado en el protocolo y rellene la sección de **medicación**.
- Notifique la vacunación concomitante en la sección de **vacunación concomitante**.

Protocolo			Número de sujeto						
Cólera 002			<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>						

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS

- 0** : No ha habido acontecimiento adverso
 - 1** : Ligero: acontecimiento adverso que el sujeto tolera bien, causa mínimas molestias y no interfiere en las actividades cotidianas
 - 2** : Moderado: acontecimiento adverso que es suficientemente molesto para interferir en las actividades cotidianas
 - 3** : Severo: acontecimiento adverso que impide las actividades cotidianas
- (En adultos y adolescentes, un acontecimiento adverso de este tipo impediría, por ejemplo, ir al trabajo o al colegio y necesitaría la administración de un tratamiento corrector)

AAN ^o	AA. 1	AA. 2	AA. 3																		
Descripción	<p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p>																		
Para IF																					
Fecha de comienzo	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo				día	mes	año
día	mes	año																			
día	mes	año																			
día	mes	año																			
Fecha de finalización	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table>				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table>				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table>				día	mes	año
día	mes	año																			
día	mes	año																			
día	mes	año																			
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3																		
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí especifique el tipo: HO: hospitalización SU: servicio de urgencia CM: consulta del médico	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>			<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>			<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>														
Causalidad En su opinión ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																		
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido																		

Protocolo				Número de sujeto								
Cólera 002				<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>								

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES

INTENSIDAD DE LOS SÍNTOMAS

- 0** : No ha habido acontecimiento adverso
 - 1** : Ligero: acontecimiento adverso que el sujeto tolera bien, causa mínimas molestias y no interfiere en las actividades cotidianas
 - 2** : Moderado: acontecimiento adverso que es suficientemente molesto para interferir en las actividades cotidianas
 - 3** : Severo: acontecimiento adverso que impide las actividades cotidianas
- (En adultos y adolescentes, un acontecimiento adverso de este tipo impediría, por ejemplo, ir al trabajo o al colegio y necesitaría la administración de un tratamiento corrector)

AANº	AA. 4	AA. 5	AA. 6																								
Descripción	_____	_____	_____																								
Para IF																											
Fecha de comienzo	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> <td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo					día	mes	año		<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> <td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo					día	mes	año		<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> <td></td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postextracción especificado en el protocolo					día	mes	año	
día	mes	año																									
día	mes	año																									
día	mes	año																									
Fecha de finalización	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> <td></td> </tr> </table>					día	mes	año		<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> <td></td> </tr> </table>					día	mes	año		<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">día</td> <td style="text-align: center;">mes</td> <td style="text-align: center;">año</td> <td></td> </tr> </table>					día	mes	año	
día	mes	año																									
día	mes	año																									
día	mes	año																									
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3																								
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí especifique el tipo: HO: hospitalización SU: servicio de urgencia CM: consulta del médico	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>			<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>			<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí tipo: → <table border="1"><tr><td> </td><td> </td></tr></table>																				
Causalidad En su opinión ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																								
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido																								

**VACUNACIÓN
CONCOMITANTE**

Protocolo				Número de sujeto
Cólera 002				_____

VACUNACIÓN CONCOMITANTE

¿Se han administrado alguna vacuna en **CUALQUIER** momento durante el estudio o en los 30 días previos a la administración del inóculo?

- No
 Sí, anote la vacunación concomitante con el nombre comercial, el nombre genérico, o ambos, y la fecha de administración de la vacuna.

Nombre comercial / genérico	Fecha de administración		
	día	mes	año
	_____	_____	_____
Para IF			
	_____	_____	_____
Para IF			
	_____	_____	_____
Para IF			
	_____	_____	_____
Para IF			
	_____	_____	_____
Para IF			
	_____	_____	_____
Para IF			

MEDICACIÓN

VÍA DE ADMINISTRACIÓN

CÓDIGO	DESIGNACIÓN
EXT	externa
ID	intradérmica
IH	inhalación
IM	intramuscular
IR	intaarticular
IT	intratecal
IV	intravenosa
NA	intranasal
OTR	otra
PE	parentenal
VO	oral
PR	rectal
SC	subcutánea
SL	sublingual
TD	transdérmica
TO	tópica
DES	desconocida
VA	vaginal

Protocolo				Número de sujeto
Cólera 002				<input type="text"/>

MEDICACIÓN

- Cualquier fármaco o tratamiento inmunosupresor o modificador de la inmunidad, cualquier vacuna distinta de la del estudio y cualquier antipirético administrado en CUALQUIER momento durante el período comprendido entre los 30 días previos a la administración del inóculo del estudio y un mes (mínimo 30 días) después de la administración del inóculo de reto, deben anotarse con su nombre comercial, su nombre genérico, o ambos, la indicación médica, la dosis diaria total, la vía de administración y las fechas inicial y final del tratamiento.
- Asimismo, cualquier otro fármaco concomitante administrado de manera profiláctica pensando en posibles reacciones a la vacuna debe anotarse con su nombre comercial, su nombre genérico, o ambos, la indicación médica (marque la casilla si es profiláctica), la dosis diaria total, la vía de administración y las fechas inicial y final del tratamiento.

¿Se ha administrado durante el estudio alguno de los medicamentos o tratamientos mencionados?

- No
 Sí, por favor rellene la siguiente tabla

Nombre comercial / genérico	Indicación médica	Dosis diaria total	Vía	Fechas inicial y final o marque la casilla si continúa al final del estudio	
				Inicial: <input type="text"/>	Final: <input type="text"/>
	<input type="checkbox"/> Profiláctica			Inicial: <input type="text"/>	Final: <input type="text"/>
Para IF					<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Profiláctica			Inicial: <input type="text"/>	Final: <input type="text"/>
Para IF					<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Profiláctica			Inicial: <input type="text"/>	Final: <input type="text"/>
Para IF					<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Profiláctica			Inicial: <input type="text"/>	Final: <input type="text"/>
Para IF					<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Profiláctica			Inicial: <input type="text"/>	Final: <input type="text"/>
Para IF					<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Profiláctica			Inicial: <input type="text"/>	Final: <input type="text"/>
Para IF					<input type="checkbox"/>

**ACONTECIMIENTOS
ADVERSOS NO
GRAVES**

Protocolo				Número de sujeto								
Cólera 002				<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>								

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES

(Notifique los **acontecimientos adversos graves** solo en el formulario de **acontecimientos adversos graves (AAG)**).

¿Se ha producido algún **acontecimiento adverso no grave un mes (mínimo 30 días)** después de la vacunación, excluidos los anotados en las páginas de **acontecimientos adversos solicitados**?

AANº	AA. 1	AA. 2	AA. 3																		
Descripción	_____	_____	_____																		
	<input type="checkbox"/> Local <input type="checkbox"/> General	<input type="checkbox"/> Local <input type="checkbox"/> General	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>																		
Para IF																					
Fecha de comienzo	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postinoculación especificado en el protocolo				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postinoculación especificado en el protocolo				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table> <input type="checkbox"/>				día	mes	año
día	mes	año																			
día	mes	año																			
día	mes	año																			
Fecha de finalización	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table>				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table>				día	mes	año	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> </tr> </table>				día	mes	año
día	mes	año																			
día	mes	año																			
día	mes	año																			
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3																		
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí: ¿Requirió medicación? → <i>Nota: Si se ha requerido medicación, rellene la sección de medicación.</i>	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																		
Causalidad En su opinión, ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																		
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5																		

Protocolo				Número de sujeto								
Cólera 002				<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </table>								

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS NO GRAVES (continuación)

AAN ^o	AA. 4	AA. 5	AA. 6																								
Descripción	_____	_____	_____																								
	<input type="checkbox"/> Local <input type="checkbox"/> General	<input type="checkbox"/> Local <input type="checkbox"/> General	<input type="checkbox"/> Local <input type="checkbox"/> General																								
Para IF																											
Fecha de comienzo	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> <td> </td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postinoculación especificado en el protocolo					día	mes	año		<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> <td> </td> </tr> </table> <input type="checkbox"/> durante el período inmediato postinoculación especificado en el protocolo					día	mes	año		<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> <td> </td> </tr> </table> <input type="checkbox"/>					día	mes	año	
día	mes	año																									
día	mes	año																									
día	mes	año																									
Fecha de finalización	<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> <td> </td> </tr> </table>					día	mes	año		<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> <td> </td> </tr> </table>					día	mes	año		<table border="1"> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td>día</td> <td>mes</td> <td>año</td> <td> </td> </tr> </table>					día	mes	año	
día	mes	año																									
día	mes	año																									
día	mes	año																									
Intensidad	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3																								
Atención médica ¿Ha solicitado el sujeto atención médica? Si la respuesta es sí: ¿Requirió medicación? → <i>Nota: Si se ha requerido medicación, rellene la sección de medicación.</i>	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																								
Causalidad En su opinión, ¿es posible que el inóculo haya contribuido a este AA?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí																								
Desenlace	<input type="checkbox"/> 1 Recuperación <input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas <input type="checkbox"/> 3 Persistencia cuando el sujeto concluye el estudio <input type="checkbox"/> 4 Muerte <input type="checkbox"/> 5 Desconocido	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5																								

ACONTECIMIENTOS ADVERSOS GRAVES

INSTRUCCIONES PARA NOTIFICAR UN ACONTECIMIENTO ADVERSO GRAVE (AAG)

LOS AAG SE NOTIFICARÁN AL INSTITUTO FINLAY EN UN PLAZO DE 24 HORAS

- 1. RELLENE LAS PÁGINAS DE AAG QUE SE ENCUENTRAN A CONTINUACIÓN**
Rellene estas páginas de la manera más completa y exacta posible con el fin de reducir al mínimo el tiempo invertido en aclarar los datos.

Si el AAG persiste en el momento de la notificación, deje en blanco el apartado "desenlace" y añada después estos datos.

- 2. ASEGÚRESE DE QUE TODA LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN LAS PÁGINAS DE LOS AAG COINCIDE CON LA DE LAS SIGUIENTES PÁGINAS DEL CRD:**

- ❖ Datos demográficos
- ❖ Historia clínica general / Exposición física
- ❖ Páginas(s) de la administración del inóculo (para la dosis administrada)
- ❖ Medicación
- ❖ Vacunación concomitante

- 3. FIRME Y FECHÉ LA SEGUNDA Y TERCERA PÁGINA DE AAG. RELLENE LA TERCERA PÁGINA DEL FORMULARIO DE AAG SÓLO SI ES NECESARIO**

- 4. FOTOCOPIE LAS PÁGINAS DE LOS AAG Y ENVÍE POR FAX LA COPIA DE DICHA PÁGINA A :**

- El contacto del estudio
(véase el archivo de centros de los investigadores para el número de fax correcto)
- Si no dispone de fotocopidora o fax, telefóne al contacto del estudio

Protocolo	Centro	País	Fecha de recepción en IF	Número de sujeto
Cólera 002	_____		_____ día mes año	_____

<p>ACONTECIMIENTO ADVERSO GRAVE (AAG)</p> <p><input type="checkbox"/> (1) Informe inicial <input type="checkbox"/> (3) Información adicional</p> <p><input type="checkbox"/> (2) Información adicional <input type="checkbox"/> (4) Información adicional</p> <hr/> <p>Datos demográficos del sujeto ^①</p> <p>Iniciales:</p> <p>_____ 1^{er} nombre _____ 1^{er} apellido _____ 2^{do} apellido</p> <hr/> <p>Fecha de nacimiento:</p> <p>_____ día _____ mes _____ año</p> <hr/> <p>Sexo:</p> <p><input type="checkbox"/> Varón</p> <p><input type="checkbox"/> Mujer</p> <hr/> <p>Acontecimiento adverso <i>(escriba con claridad en letras de imprenta)</i> ^②</p> <p>Diagnóstico (o signos y síntomas si se desconoce)</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <hr/> <p style="background-color: #cccccc;">Para IF</p> <hr/> <p>Fecha y hora de inicio ^③</p> <p><i>(Primeros síntomas de acont. adv.)</i></p> <p>_____ día _____ mes _____ año _____ hora _____ min</p> <hr/> <p>Fecha y hora de finalización ^④</p> <p><i>(si persiste, déjelo en blanco)</i></p> <p>_____ día _____ mes _____ año _____ hora _____ min</p> <hr/> <p>En su opinión, ¿es posible que el inóculo haya contribuido al AAG? ^⑤</p> <p><input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí</p> <hr/> <p>Desenlace ^⑥</p> <p><input type="checkbox"/> 1 Recuperación</p> <p><input type="checkbox"/> 2 Recuperación con secuelas</p> <p><input type="checkbox"/> 3 Persistencia</p> <p><input type="checkbox"/> 4 Muerte</p> <hr/> <p>Acción emprendida con respecto al inóculo en estudio ^⑦</p> <p><input type="checkbox"/> Ninguna</p> <p><input type="checkbox"/> Se postpone el ciclo de inoculación</p> <p><input type="checkbox"/> Se interrumpe el ciclo de inoculación</p> <hr/> <p>Acontecimientos después de una nueva inoculación ^⑧</p> <p><input type="checkbox"/> Reparación del acontecimiento</p> <p><input type="checkbox"/> No reaparece acontecimiento</p> <p><input type="checkbox"/> Desconocido por el momento</p> <p><input type="checkbox"/> No procede</p>	<p>◆ Criterios específicos para considerar grave este acontecimiento adverso ^⑨</p> <p><i>(marque todo lo que proceda)</i></p> <p>1 <input type="checkbox"/> Provoca la muerte</p> <p style="padding-left: 40px;">¿Autopsia? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>cuando lo reciba envíe el informe de la autopsia</p> <p>2 <input type="checkbox"/> Pone en peligro la vida</p> <p>3 <input type="checkbox"/> Produce una discapacidad o incapacidad persistente o significativa</p> <p>4 <input type="checkbox"/> Requiere la hospitalización del paciente</p> <p style="padding-left: 40px;">Fecha de ingreso: _____ día _____ mes _____ año</p> <p style="padding-left: 40px;">Fecha de alta: _____ día _____ mes _____ año</p> <p>5 <input type="checkbox"/> Prolonga la estancia hospitalaria</p> <p style="padding-left: 40px;">Fecha de alta: _____ día _____ mes _____ año</p> <p>6 <input type="checkbox"/> Anomalía congénita o defecto de nacimiento en la descendencia de un sujeto del estudio</p> <p>7 <input type="checkbox"/> Acontecimiento "medicamento importante"-específico:</p> <p>_____</p> <hr/> <p>◆ Otros acontecimientos (no AAG) que deben notificarse</p> <p><input type="checkbox"/> Cáncer</p> <p>Otros posibles factores contribuyentes: ^⑩</p> <p><i>(marque todo lo que proceda)</i></p> <p><input type="checkbox"/> Historia clínica <i>(registro en la sec. 15)</i></p> <p><input type="checkbox"/> Otros medicamentos <i>(registro en la sec. 14)</i></p> <p><input type="checkbox"/> Procedimiento exigido por el protocolo</p> <p><input type="checkbox"/> Otro procedimiento</p> <p><input type="checkbox"/> Falta de eficacia</p> <p><input type="checkbox"/> Administración errónea</p> <p><input type="checkbox"/> Otros especifique: _____</p> <p><i>(Registro de la información adicional en la sec. 19)</i></p> <hr/> <p>¿Ha abandonado el sujeto el estudio por este AAG específico? ^⑪</p> <p><input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> Sí</p>
--	--

Protocolo				Número de sujeto
Cólera 002			AAG (continuación)	_____

Información sobre el inóculo en estudio (12)

Inóculo (<i>especifique si es mixta o separada</i>)	Dosis nº	Lote nº	Vía/Lugar	Fecha
				____ ____ ____ ____ ____ ____ ____ ____
				____ ____ ____ ____ ____ ____ ____ ____
				____ ____ ____ ____ ____ ____ ____ ____
				____ ____ ____ ____ ____ ____ ____ ____

Fármacos y vacunas concomitantes que pueden haber contribuido a este AAG (13)

Fármaco / Vacuna	Dosis	Frecuencia	Vía	Fecha de comienzo	Fecha de finalización
				____ ____ ____ ____ ____ ____	____ ____ ____ ____ ____ ____
				____ ____ ____ ____ ____ ____	____ ____ ____ ____ ____ ____
				____ ____ ____ ____ ____ ____	____ ____ ____ ____ ____ ____
				____ ____ ____ ____ ____ ____	____ ____ ____ ____ ____ ____

Enfermedades intercurrentes y antecedentes médicos de interés que pueden haber contribuido a este AAG (*incluidas las alergias*) (14)

Enfermedad:	¿Persiste?	No <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/>
Enfermedad:	¿Persiste?	No <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/>

Fármaco(s) utilizado(s) para tratar este AAG (15)

Fármaco	Dosis	Frecuencia	Vía	Fecha de comienzo	Fecha de finalización
				____ ____ ____ ____ ____ ____	____ ____ ____ ____ ____ ____
				____ ____ ____ ____ ____ ____	____ ____ ____ ____ ____ ____
				____ ____ ____ ____ ____ ____	____ ____ ____ ____ ____ ____

Tratamiento quirúrgico a este AAG (*especifique*) (16)

--

Descripción (*describa brevemente el AAG, incluyendo los hallazgos diagnósticos de interés, los datos de laboratorio y la evolución de los acontecimientos, etc ...*) (17)

Firma del investigador	(1)	(2)	(3)	(4)
Fecha	____ ____ ____ ____ ____ ____ día mes	____ ____ ____ ____ ____ ____ día mes año	____ ____ ____ ____ ____ ____ día mes año	____ ____ ____ ____ ____ ____ día mes año
Nombre con letra de				



INSTITUTO FINLAY

Protocolo				Número de sujeto					
Cólera 002			AAG (continuación)	<table border="1"><tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table>					

Comentarios *(para más comentarios sobre el caso).*

20

Area for handwritten comments with horizontal dashed lines.

Firma del investigador	(1)	(2)	(3)	(4)																																																
Fecha	<table border="1"><tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td>día</td><td>mes</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>							día	mes					<table border="1"><tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td></tr></table>							día	mes	año				<table border="1"><tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td></tr></table>							día	mes	año				<table border="1"><tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td>día</td><td>mes</td><td>año</td><td></td><td></td><td></td></tr></table>							día	mes	año			
día	mes																																																			
día	mes	año																																																		
día	mes	año																																																		
día	mes	año																																																		
Nombre con letra de																																																				

impresa:

--

**CONCLUSIÓN DEL
ESTUDIO**

INSTITUTO FINLAY

Protocolo		Grupo de estudio al que pertenece:	Número de sujeto
Cólera 002		<input type="checkbox"/> Vacuna <input type="checkbox"/> Placebo	_____

CONCLUSIÓN DEL ESTUDIO

¿Ha sido el código roto?

- No
- Sí

¿Se ha aplicado algún criterio de eliminación durante el estudio?

- No
- Sí, especifique _____

¿El sujeto se ha retirado del estudio?

(Una retirada corresponde a un sujeto que no acude a la visita final prevista en el protocolo)

- No
- Sí, marque la categoría **MÁS adecuada** para el abandono
 - (AAG) Acontecimiento adverso grave: (rellene el **formulario de acontecimientos adversos graves**)
 - (AAX) Acontecimiento adverso no grave (rellene la **sección de acontecimientos adversos no graves**), especifique el número de AA: _____
 - (IPT) infracción del protocolo, especifique: _____
 - (RTC) Retirada del consentimiento, no por un acontecimiento adverso
 - (TRA) Traslado de la zona del estudio
 - (PSE) Pérdida de contacto durante el seguimiento
 - (OTR) Otras, especifique: _____

Fecha del último contacto: día mes año

¿Se encontraba bien el sujeto en la fecha del último contacto?

- No, anote los detalles en la **sección de acontecimientos adversos**
- Sí

FIRMA DEL INVESTIGADOR

Certifico que he revisado los datos de este cuaderno de recogida de datos y las secciones de acontecimientos adversos y acontecimientos adversos graves, incluidos los datos de laboratorio (si procede) y que toda la información es completa y exacta.

Fecha: día mes año

Firma del investigador:



REPÚBLICA DE CUBA
MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA

CENTRO PARA EL CONTROL ESTATAL DE LA CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS

Con fundamento legal en la Resolución Ministerial No. 178 del 8 de Octubre de 1991 y una vez satisfechas las exigencias establecidas en el mismo para la autorización de inicio de ensayos clínicos en humanos, según los Requisitos para la Autorización y Modificación de Ensayos Clínicos vigentes y bajo el compromiso de velar por el cumplimiento de las Buenas Prácticas en el proceso de investigación-desarrollo del producto, se otorga el Certificado para:

AUTORIZACION DE MODIFICACIÓN DEL ENSAYO CLINICO

- Se Autoriza a:** Dr. Gustavo Sierra González
Vicepresidente Investigaciones
Instituto Finlay
- Iniciar el Ensayo Clínico:** Estudio de reto controlado, aleatorizado, a doble ciego, con una cepa virulenta de *Vibrio cholerae* para determinar eficacia protectora de una dosis del orden de 10^9 UFC de la cepa viva atenuada 638, inoculada por vía oral, en voluntarios adultos sanos del sexo masculino.
- Productos:** **En investigación:** Candidato vacunal con cepa viva atenuada *Vibrio cholerae* 638.
Producto para Reto: Preparado con cepa virulenta *Vibrio cholerae* 3008.
- No. de Registro:** Producto no registrado
- Forma Farmacéutica:** Suspensión oral
- Vía de Administración:** Oral
- Dosis a Utilizar:** Candidato vacunal con cepa viva atenuada *Vibrio cholerae* 638.-
dosis única $1-9 \times 10^9$ UFC.
Preparado con cepa virulenta *Vibrio cholerae* 3008.- dosis única $1-6 \times 10^6$ UFC.

Descripción de la Modificación:

Dado que las condiciones de realización del estudio no se modifican, y la Licencia de Seguridad Biológica todavía mantiene su vigencia, se extiende el período de validez de la autorización previamente otorgada hasta 6 meses después de expedido el presente

Composición: Cada 50 mL contiene:

Candidato vacunal en estudio, con cepa viva atenuada de Vibrio cholerae 638

Vibrio cholerae 638	50 - 450 X 10 ⁹ UFC
Disolución de Bicarbonato de sodio 1,33%	50 mL

Preparado para Reto con cepa virulenta Vibrio cholerae 3008

Vibrio cholerae 3008	50 - 300 X 10 ⁶ UFC
Disolución de Bicarbonato de sodio 1,33%	50 mL

Plazo de Validez: Solución de uso inmediato

Condiciones de Almacenamiento: No almacenar

Tratamiento Placebo: Se administrará una solución de bicarbonato al 1,33% preparada en 50 mL de agua para inyección.

Ensayo clínico : De Reto para Candidato Vacunal Anticolérico

Descripción del Ensayo Autorizado:

Se trata de un ensayo clínico, controlado con placebo, aleatorizado, a doble ciegas, con una cepa virulenta de Vibrio cholerae para evaluar la eficacia protectora de una dosis de la cepa viva atenuada 638, en 72 voluntarios adultos sanos del sexo masculino.

El estudio se desarrollará en ciclos que pueden variar entre 2 y 4, y cada uno de estos ciclos consta de 2 etapas. Una 1ra etapa en la que se ingresan 18 pacientes, durante 14 días, en 2 grupos de 9 cada uno, para la administración del placebo y el candidato vacunal de la cepa atenuada a las dosis referidas. En esta etapa es que se realiza la aleatorización y cegaje del estudio, con la generación de códigos correspondientes, se efectúan las evaluaciones clínicas, controles y estudios de laboratorio (sangre, saliva, heces fecales) planificados y se establece el alta, luego de verificar la existencia de 3 coprocultivos seriados negativos. Esta 1ra etapa concluye 14 días después del alta (es decir que dura 28 días), sin embargo por razones logísticas para el desarrollo del estudio es necesario reingresar al voluntario 2 días antes para iniciar el chequeo preinoculación de la cepa de reto, y así se solapan las 2 etapas. En la segunda etapa, se administra la cepa infectiva y se mantiene ingresado al voluntario, por 9 días posteriores a la inoculación, se mantienen los criterios de alta similares a la 1ra etapa.

En esta segunda etapa por razones de bioseguridad (capacidad de la sala) el número de voluntarios a incluir se seleccionan aleatoriamente y puede variar de 8 a 12 distribuidos de forma equitativa en 2 grupos de voluntarios. La etapa dura 28 días al igual que la primera.

En ambas etapas, el 5to día posterior a la administración de cualquiera de los productos se le dará por vía oral a todos los incluidos 300 mg de doxiciclina en dosis única.

Se evalúa en el estudio el comportamiento, causalidad y seguimiento de las reacciones adversas, con todo lo que implica para la reactogenicidad y seguridad de los productos en estudio, los aspectos de inmunogenicidad y la eficacia protectora de la formulación.

Por las características de los productos en investigación, los objetivos del estudio y la repercusión social de este ensayo, se cuenta además con la Licencia de Seguridad Biológica, emitida por el Centro Nacional de Seguridad Biológica para llevar a cabo el estudio en las Instalaciones del IPK .

La duración de un ciclo es de 3.5 meses aproximadamente,



REPÚBLICA DE CUBA
MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA

CENTRO PARA EL CONTROL ESTATAL DE LA CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS

Recomendaciones:

1. Mantener contacto con el CECMED, previo al inicio del estudio, para establecer la fecha probable de realización de la Auditoría al ensayo clínico en fase de ejecución.
2. Garantizar el monitoreo estricto del estudio así como el cumplimiento de las Buenas Prácticas Clínicas, teniendo en consideración las características del producto en investigación y las condiciones del ensayo a ejecutar.
3. Garantizar la preparación y entrenamiento del personal profesional, técnico y de servicios, involucrado en la investigación.
4. Brindar un adiestramiento especializado a los investigadores que estarán a cargo del llenado del Cuaderno de Recogida de Datos, estableciendo un monitoreo sistemático para el control de dicha actividad.

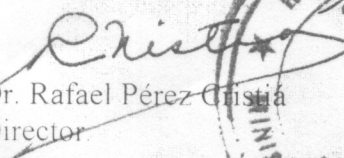
Fecha de Autorización: 17 de Julio del 2001

Fecha de Autorización de la 1^{ra} Modificación: 23 ENE 2003

Período de Validez de la Autorización: 23 JUL 2003


Fecha de Licencia de Seguridad Biológica: 8 de Mayo del 2001

Período de Validez de la Licencia de Seguridad Biológica: 8 de Mayo del 2003


Dr. Rafael Pérez Cristia
Director



Registro de la Secretaría del CECMED/

Folio 06 Folio 000010 No. 001/00-001-03-B Fecha 24.01.2003 Firma 

Fe: Lou

Ciudad de la Habana, 17 de marzo del 2003
"Año de los Gloriosos Aniversarios de Martí y el Moncada"

A: Dra. Concepción Campa
Presidenta-Directora General
Instituto Finlay

Biol.: 076/03

Con fundamento legal en la Resolución Ministerial No. 178 del 8 de octubre de 1991 y la Resolución Ministerial No. 166 del 4 de octubre del 2000, una vez satisfechas las exigencias establecidas por el CECMED para el inicio del ensayo clínico, se sometió a Auditoría para conocer acerca de la protección de los sujetos involucrados, el desarrollo del estudio, adherencia al protocolo aprobado y grado de cumplimiento de las Buenas Prácticas Clínicas (Resolución Ministerial No. 165 del 2000) y se emite el

INFORME FINAL DE AUDITORIA AL ENSAYO CLINICO

Título: "Estudio de Reto controlado, aleatorizado, a doble ciegos con una cepa virulenta de vibrio cholerae para determinar la eficacia protectora de una dosis de 10^9 UFC de la cepa viva atenuada 638, inoculada por vía oral en voluntarios sanos del sexo masculino".

Institución: Instituto de Sueros y Vacunas Finlay.

Investigador Principal: Dr. Manuel Díaz Jidy. (IPK).

Producto en Estudio: Candidato vacunal con cepa viva atenuada Vibrio cholerae 638

Producto para reto: Preparado con cepa virulenta Vibrio cholerae 3008

Forma Farmacéutica: Suspensión oral.

Vía de Administración: Oral.

Fecha de Autorización del Ensayo Clínico: 17 de Julio del 2001

Fecha de Autorización de la Modificación del Ensayo Clínico: 27 de Enero del 2003.

Fecha de Realización de la Auditoria: 26 y 28 de Febrero del 2003

RECIBIDO
SALIDA 1703/03
FECHA 25.3.03

Descripción de los resultados y deficiencias detectadas durante la Auditoría

1. Condiciones, personal y sitios auditados durante la ejecución del ensayo clínico:

En el ensayo clínico se realiza en la Unidad de Aislamiento para Ensayos Clínicos (UAEC) del Instituto de Medicina Tropical ubicada en la sala F del 5to piso del Hospital con la participación del Laboratorio Clínico y del Laboratorio de Microbiología de Cólera del Finlay. Se realizó en 2 tiempos; la 1ra etapa incluyó la reunión de inicio, la observación de la preparación del inóculo en el Laboratorio de Microbiología de Cólera y su administración según el programa establecido y la observación de los procedimientos y rutinas de trabajo según se establece en el Protocolo; y en segunda instancia, la revisión de la Documentación, la verificación de la evaluación de eventos adversos en las primeras 6 horas y a las 72 horas post-inmunización y la reunión de conclusiones.

En el transcurso de la auditoría fueron entrevistados del Instituto Finlay, la Dra. Rosa Lidia Sales Rodríguez, Vicedirectora de Investigaciones; Lic. Irma González, Especialista de Control de la Calidad; Lic. Luis García, Director de Vacunas Bacterianas, J' del Proyecto Cólera; Dr. Jorge Menéndez, Director de Ensayos Clínicos del Finlay (Monitor); Dr. Rodrigo Valera, Especialista de la Dirección de Ensayos Clínicos (Monitor); Dra. Hilda María García, J' del Dpto. de Microbiología de la Dirección de Vacunas Bacterianas; y del Instituto de Medicina Tropical (IPK), al Dr. Manuel Díaz Jidy, J' del Servicio de Hospitalización (Investigador Principal), Dr. Roberto Fernández J' de Bioseguridad y las Lic. en Enfermería Vilma Medina Almenares, Marlen Casola Rojas y Amelia U. López Chávez.

Se describen los resultados, conforme lo que establece el PNO. 06.019 Metodología para la Realización de Auditorías a Ensayos Clínicos, con las deficiencias detectadas y las evidencias objetivas de no conformidad con el cumplimiento de las Buenas Prácticas Clínicas vigentes en Cuba y las Regulaciones sobre Autorización y Modificación de Ensayos Clínicos y Manejo y Uso de los Productos en Investigación que norman estas actividades.

2. Características del producto en estudio:

Se verifica si existe o no cumplimiento de la Regulación No. 26/2000. Requerimientos para el Manejo y Uso de los Productos en Investigación y Responsabilidades de las Partes y de las Buenas Prácticas Clínicas vigentes en Cuba (BPC).

Producto en estudio: Candidato vacunal en estudio con cepa viva atenuada Vibrio Cholerae 638
Composición: Vibrio cholerae 638 $1-9 \times 10^9$ UFC, Disolución de Bicarbonato de Sodio 1,33%, 30 ml.
Cumple con 3.1.2 de la Regulación No. 26/2000 y acápite 4 de BPC.

Producto para reto : Preparado para reto con cepa virulenta Vibrio Cholerae 3008
Composición: Vibrio Cholerae 3008 $1-6 \times 10^6$ UFC Disolución de Bicarbonato de Sodio 1,33% 30 ml
Cumple con 3.1.2. Regulación No. 26/2000 y acápite 4 de BPC.

- **Certificados de Calidad:** Cumple con 3.1.2. Regulación No. 26/2000
- **Preparación y control del inóculo:** Cumple con 3.1.2 Regulación No. 26/2000
- **Registros de la entrega de los productos:** No existe registro de entrega del inóculo a la sala, previo a la administración a los voluntarios. No cumple con 3.1.2. Regulación No. 26/2000 y acápites 4.6.3, 5.6.2 de las BPC.
No conformidad: No existe el registro de entrega del inóculo en la sala, previo a la administración a los voluntarios. No cumple con 3.1.2. Regulación No. 26/2000 y acápites 4.6.3, 5.6.2 de las BPC.
- **Suministro adecuado de los productos:** Cumple con 3.1.3. Regulación No. 26/2000 y acápites 4.6.3 y 5.6.2 de las BPC.
- **Información del Producto (Manual del Investigador):** Cumple con 3.1.1 Regulación No. 26/2000. y acápites 6.12. y 8 de las BPC
- **Gestión y suministros de los medicamentos y materiales necesarios:** Cumple con 3.1.12. Regulación No. 26/2000 y 6.12 y 6.14 de las BPC.

- **Etiquetado y codificación del producto administrado:** Cumple con 3.1.11, 4.1.1 y 4.1.2. Regulación No. 26/2000 y 6.13 de las BPC.

3. Actividades de los Investigadores y Monitores en el manejo del Producto en Investigación:

Mediante la realización de entrevistas, revisión de registros y controles, chequeo y observación de la actividad se verifica el cumplimiento de lo establecido en el protocolo y la Regulación 26/2000 Requerimientos para el Manejo y Uso de los Productos en Investigación y Responsabilidades de las Partes.

- **Investigadores (Sala):** Presencia, Conocimiento, Registro y Control: Cumple con 3.2.1, 3.2.4, 3.2.9 Regulación No. 26/2000 y 4.9 de las BPC. Con excepción de los coprocultivos, no hay evidencias en las Historia Clínicas del resultado de laboratorio de los exámenes complementarios que se han realizado en las diferentes etapas del estudio.
- **No Conformidad:** No hay evidencias en las Historia Clínicas del resultado de laboratorio de los exámenes complementarios, con excepción de los coprocultivos en la primera etapa del estudio. No cumple con Buenas Prácticas Clínicas.
- **Enfermeras:** Conocimiento y aplicación adecuada de las precauciones entéricas, procedimientos para el lavado de las manos con y sin guantes, manipulación del Instrumental, ropa, utensilios de comida, manejo de los materiales potencialmente infecciosos (heces fecales y vómitos), descontaminación y esterilización, toma y envío de las muestras a los laboratorios, etc según normas de seguridad. Cumplen con lo establecido en el protocolo. Instrucciones escritas y PNO.
- **Monitores:** Presencia, Conocimiento, Registro y Control: Los 2 monitores del Instituto Finlay distribuyen las actividades de manera organizada, dadas las características del producto en estudio, pero no existen registros, ni constancia de la verificación del cumplimiento de la entrega de los productos, ni registro de las visitas de monitoreo, ni informes de la ejecución de estas visitas. No cumple con 3.3 de la Reg. 26/2000.

No Conformidad: No están registradas las visitas de monitoreo antes y durante el ensayo, ni existen informes de la ejecución de estas visitas, tampoco hay constancia de la verificación del cumplimiento de la entrega de los productos. No cumple con 3.3 Regulación No. 26/2000, ni con Buenas Prácticas Clínicas

4. Protocolo Autorizado:

Se verifica el cumplimiento de las Regulaciones No. 21/2000 Requisitos para la Solicitud de Autorización y Modificación de Ensayos Clínicos, la Regulación 20/2000 Buenas Prácticas Clínicas en Cuba (BPC) y el protocolo autorizado, que coincide con la versión aprobada por el CECMED.

5. Documentación esencial de la Carpeta del Investigador:

Se revisa la documentación de la Carpeta del Investigador, siguiendo lo establecido en las BPC para la documentación antes y durante la investigación, que aparece descrita en el acápite 9 y con la presencia del Investigador Principal.

- **Documentación de Inicio:** Cumplen con la existencia de:
 - Protocolo de Investigación
 - Certificado de Aprobación del CEIC
 - Autorización de Inicio de Ensayo Clínico (AEC)
 - Certificado de Modificación de la AEC
 - Modelo de Consentimiento Informado
 - Fecha de Inicio del EC coincide con lo planificado en el Certificado de Modificación de AEC
 - Licencia de Seguridad Biológica
 - Sobre lacrado con las listas de aleatorización. Cumple con 7.5 de las BPC.
 - Rango de valores normales de los procedimientos de laboratorio y/o test incluido en el ensayo documentado.
 - Procedimientos normalizado de operación del laboratorio clínico y de microbiología documentados
 - Validación del equipamiento incluido en el protocolo documentado.

No Conformidad: No están incorporados los currículum vitae de todos los investigadores participantes, no presentan la lista de las firmas e iniciales de todas las personas autorizadas a realizar entradas y/o correcciones en el CRD. Deben organizar la carpeta del investigador e incluir el Índice de los documentos que debe contener la misma. No cumple con acápite 9 de las BPC

6. Condiciones de vigencia de la Licencia de seguridad:

Cumple con los puntos 1, 5 y 7. No presentan la documentación del monitoreo de las aguas de la Presa Niña Bonita, refieren que están en el CITMA (punto 2). No existe documentación que avale el cumplimiento de:

- La garantía de una conexión a la planta eléctrica de emergencia de aquellos dispositivos que intervengan con carácter decisivo en el ensayo.
- Registro del chequeo diario la eficiencia de la autoclave mediante controles biológicos y físicos-químicos.
- Registros del proceso de incineración del material de desecho del ensayo.
- La garantía de cloración de los residuales durante las 24 horas

No Conformidad: No cuentan en la institución con la documentación del monitoreo de las aguas de la Presa Niña Bonita. No existe documentación que avale el cumplimiento de los puntos 3, 4 y 6 de las condiciones de vigencia de la licencia de seguridad biológica y no tienen registros del proceso de incineración del material de desecho del ensayo. No cumple con acápite 4.9 y 9 de las Buenas Prácticas Clínicas.

7. Consideraciones éticas: Cumple con 7.12 de las Buenas Prácticas Clínicas

- **Modelo de Consentimiento Informado e Información a los pacientes:** Verificación de la correspondencia con el Protocolo autorizado, llenado y firmado correcto, completo [1 x incluido]:

Se entrevistaron los 8 voluntarios incluidos en la segunda etapa del estudio para la verificación recibida previa a la ejecución del ensayo y el proceso de obtención del consentimiento informado, cumpliendo con el acápite 4.8 y 7.12 de las Buenas Prácticas Clínicas. El modelo del consentimiento informado coincide exactamente con la versión autorizada en el protocolo. Cumple con el punto 4.8.8 y 9.2 de las Buenas Prácticas Clínicas

8. Criterios de Selección: Se verificaron mediante la revisión de los registros de inclusión y exclusión de cada voluntario, el Consentimiento Informado y el CRD.

- **Criterios de Inclusión** (hombres, sanos, 18 a 40 años, ex. Físico, laboratorio y test psicométrico dentro de parámetros normales, voluntariedad) Conocimiento, Cumplimiento y Registros

Cumple con lo establecido en el protocolo y con el acápite 7.5.2 de las BPC.

- **Criterios de Exclusión** (Concordancia con lo descrito en el protocolo y CRD) Conocimiento, Cumplimiento y Registros

Cumple con lo establecido en el protocolo y con el acápite 7.5.3 de las BPC.

- **Criterios de Salida** (Concordancia con lo descrito en el protocolo y CRD) Conocimiento, Cumplimiento y Registros

Cumple con lo establecido en el Protocolo. y con el acápite 7.5.4 de las BPC.

9. Tratamiento:

Se verifica el cumplimiento de lo establecido en el protocolo y en las BPC mediante la revisión de los CRD, los registros y controles de la administración del inóculo, la entrevista a los investigadores, enfermeras y voluntarios así como la observación de la administración del producto de reto.

Vía de Administración: oral.

Etapas I (Verificar CRD e Historias Clínicas)

- Administración de 100 mL de Bicarbonato al 1, 33%, a los 5 minutos inóculo (cepa viva atenuada 638, $1-9 \times 10^9$ UFC) o placebo 50 mL, vía oral.

Etapas II:

- Administración de 100 mL de Bicarbonato al 1, 33%, a los 5 minutos inóculo (cepa virulenta 3008, $1-6 \times 10^6$ UFC), 50 mL, vía oral, según el protocolo del estudio

Se verifica el cumplimiento de la administración de los productos en estudio, comprobándose que se administra 120ml de bicarbonato y 30 ml de la cepa y se administra con 30 minutos de diferencia y no con 5 minutos como está descrito en el protocolo, por lo que sugerimos hacer modificaciones al protocolo. No cumple con el acápite 7.6.1 de las BPC.

No Conformidad: Se administra 120 ml de bicarbonato y 30 ml de la cepa y se administra con 30 minutos de diferencia y no con 5 minutos como está descrito en el protocolo. No cumple con el acápite 7.6.1 de las BPC

• **Tratamiento Concomitante:** (Registros y CRD)

En cada visita el investigador indaga en los sujetos la posible administración de algún otro medicamento (inmunosupresores, vacunas, antipiréticos o productos diferente al del estudio), los cuales deben ser registrados en la HC y CRD con el nombre genérico o comercial, indicación, dosis diaria, vía de administración, fecha de inicio y terminación del tratamiento. Se constata la indicación del tratamiento concomitante de la primera etapa en la Historia Clínica, pero no en el CRD.

No Conformidad: Se constata la indicación del tratamiento concomitante en la Historia Clínica, pero no en el CRD. no cumple con acápite 4.9 y 6.18.4 de las BPC y 3.2.4 y 3.3 de la Reg. 26/2000.

Doxiciclina, 300 mg, vía oral, dosis única, al 5to día de la administración del inóculo en las 2 etapas, sólo sería adelantado si el volumen de diarrea excede los 4 litros antes del tiempo previsto. El lote autorizado en el ensayo tiene las siguientes características: (European Generics, Italia, 100 mg, Lote 06, FV: 11/2001) y el utilizado es Norman S.A. lote R-1 con FV: 10/2003 (Deben notificar esta modificación al protocolo al CECMED).

Debe quedar contemplado en los CRD, el registro específico o aparte de la Doxiciclina (como droga utilizada en el estudio)

No Conformidades:

- El lote de Doxiciclina utilizado en el ensayo es diferente al aprobado.
- Se registra la indicación de la Doxiciclina en la Historia Clínica, pero no está contemplada su registro específico en los CRD. No cumple con acápite 4.9 de las BPC.

• **Aleatorización y Asignación al Tratamiento:** Se revisa la documentación y tiene la asignación clasificada y sellada con la lista aleatoria

Cumple con lo establecido en el protocolo y con el acápite 7.4.3. y 7.4. 5 de las BPC.

• **2. Evaluación de Seguridad e Inmunogenicidad**

Evaluación de Reactogenicidad:

Para la evaluación de la reactogenicidad de la vacuna se realizó la observación de la post-inmunización en las 6 primeras horas y a las 72 horas en la segunda etapa del estudio. Se realizó además la revisión de las historias clínicas y de los CRD de los 14 voluntarios que participaron en el ensayo.

- Se constata que los CRD están incompletos, no se recoge la exploración física en el inicio de la etapa de reto, la toma o no de las muestras de sangre para la evaluación de inmunogenicidad, ni de las heces fecales para coprocultivos, además de otras muestras para estudio parasitológico, muestras de orina, muestras de saliva, etc; las cifras de TA, temperatura y pulso son parte del monitoreo diario en el examen físico y no de los eventos adversos por lo que se sugiere modificarlo en el CRD, faltan en ocasiones las firmas de los técnicos de laboratorios. No cumple con 4.9 y 7.8.2 de las BPC.

No Conformidades:

- Los CRD están incompletos, no se recoge la exploración física en el inicio de la etapa de reto, no de las muestras de sangre para la evaluación de inmunogenicidad, ni de las heces fecales para cultivo más de otras muestras para estudio parasitológico, muestras de orina, muestras de saliva, etc. en ocasiones las firmas de los técnicos de laboratorios. No cumple con 4.9 y 7.8.2 de las BPC

- Las cifras de TA, temperatura y pulso son parte del monitoreo diario en el examen físico y no de los eventos adversos por lo que se sugiere modificarlo en el CRD. No cumple con BPC

- Observación en la sala por la enfermera y el investigador (Cumple con BPC)
- Las condiciones en la sala para el tratamiento de los eventos adversos se verificaron mediante la comprobación de la existencia del stock para el tratamiento de urgencias, por la existencia del PNO de las instrucciones a seguir ante la aparición de reacciones adversas y el manejo de esta por los investigadores y enfermeras que es adecuado en general.
- La ocurrencia de cualquier evento adverso durante el estudio es registrado según el tipo, intensidad y causalidad de los eventos inesperados. El mecanismo de información sobre las RAM para cada voluntario después de la administración del inóculo observado en cada etapa es adecuado.
- Durante las 11 primeras horas posteriores a la administración del inóculo no se presentaron eventos adversos, el primer voluntario comenzó a presentar después de este tiempo las primeras manifestaciones y a las 48 horas había presentado 34 deposiciones líquidas que representaban 5 935 ml y 2 vómitos presentando un cuadro clínico de deshidratación grado II, por lo que fue hidratado por vía parenteral y fue necesario a criterio del investigador principal administrar la dosis correspondiente de doxiciclina. A las 48 horas además se constató otro caso con 2 diarreas líquidas (grado III) y otro voluntario aunque aún no tenía criterios de aparición de la enfermedad, comenzaba a presentar las primeras manifestaciones clínicas, con el que se procedió según lo establecido en el protocolo.

1.1. Plan detallado del Ensayo y Consideraciones Prácticas:

Se verificó el cumplimiento de lo establecido en el protocolo y en las BPC mediante la observación y revisión de las condiciones en la UAEC, Laboratorio Clínico y Microbiológico para la ejecución del ensayo:

- Organización y adecuación en la Sala de las condiciones para la ejecución del ensayo (procedimientos, condiciones del instrumental, equipamiento y materiales empleados en el ensayo y en la evaluación de los eventos adversos, conforme a las normas de bioseguridad. Cumple con lo establecido en el protocolo.
- Flujograma de las actividades que se realizan en los ciclos del ensayo, donde se constata un error en el diagrama de actividades al no ser descrita la toma de muestra de orina que es realizada a los 7 días. Cumple con lo establecido en el protocolo.
- El correcto trabajo de los investigadores, enfermeras y monitores, en la selección de los voluntarios aptos para entrar en cada ciclo, obtención del consentimiento informado, cumpliéndose así con lo establecido en el protocolo.
- Las condiciones de los laboratorios para la realización del estudio (procedimientos, temperatura, equipamiento, registros, preparación del personal, control de calidad). Cumple con BPC y con lo establecido en el protocolo.

RESUMEN DE LAS NO CONFORMIDADES:

1. No existe el registro de entrega del inóculo en la sala, previo a la administración a los voluntarios.
2. No hay evidencias en las Historia Clínica del resultado de laboratorio de los exámenes complementarios, con excepción de los coprocultivos en la primera etapa del estudio.
3. No están registradas las visitas de monitoreo antes, al inicio y durante el ensayo, ni informes de la ejecución de estas visitas, tampoco hay constancia de la verificación del cumplimiento de la entrega de los productos.
4. No están incorporado el currículum vitae de todos los investigadores participantes, no presentan la lista de las firmas e iniciales de todas las personas autorizadas a realizar entradas y/o correcciones en el CRD, Deben organizar la carpeta del investigador e incluir el Índice de los documentos que debe contener la misma.
5. No presentan la documentación del monitoreo de las aguas de la Presa Niña Bonita, refieren que están en el CITMA (punto 2). No existe documentación que avale el cumplimiento de los puntos 3, 4 y 6 de la Licencia de seguridad biológica. No tienen registro de incineración del material de desecho del ensayo.
6. Se administra 120ml de bicarbonato y 30 ml de la cepa y se administran con 30 minutos de diferencia y no 5 minutos como está descrito en el protocolo.
7. Se constata la indicación del tratamiento concomitante en la Historia Clínica, pero no se ha transcrito al CRD
8. El lote de Doxiciclina utilizado en el ensayo es diferente al aprobado.
9. Se registra la indicación de la Doxiciclina en la Historia Clínica, pero no está contemplada su registro específico en los CRD.
10. Los CRD están incompletos, no se recoge la exploración física en el inicio de la etapa de reto, la toma o no de

las muestras de sangre para la evaluación de inmunogenicidad, ni de las heces fecales para coprocultivos, además de otras muestras para estudio parasitológico, muestras de orina, muestras de saliva, etc; , faltan en ocasiones las firmas de los técnicos de laboratorios.

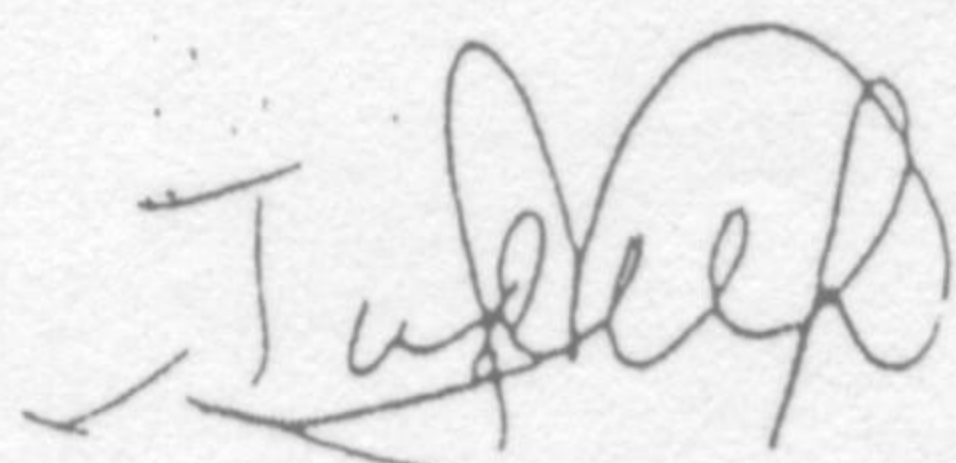
11. Las cifras de TA, temperatura y pulso son parte del monitoreo diario en el examen físico y no de los eventos adversos por lo que se sugiere modificarlo en el CRD

CONCLUSIONES:

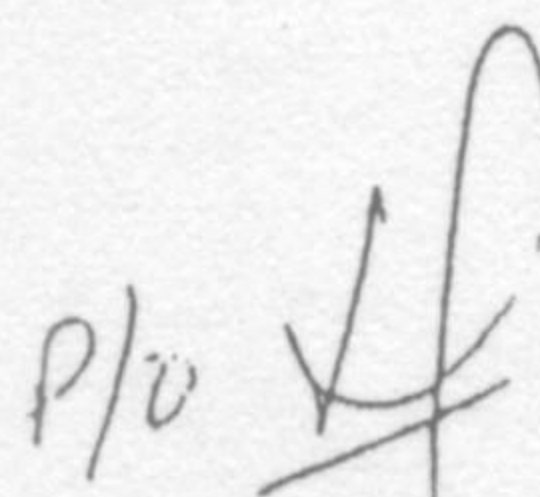
Se comprueba acerca de la seguridad y protección adecuada de los voluntarios involucrados en el estudio; así como el cumplimiento aceptable de las BPC durante la ejecución del ensayo. Se reflejan además las no conformidades detectadas, las que se describen en el informe detalladamente.

Deben enviar al CECMED las propuestas de modificaciones identificadas relacionadas con el cambio de lote de la doxiciclina que se administra en el ensayo e inclusión de su registro en el CRD, las cantidades administradas de bicarbonato, inóculo y/o placebo, así como el tiempo de administración entre ambas soluciones; y extracción de sangre el tercer día en lugar del día 28 después de cada inmunización en ambas etapas para monitoreo de presencias de mediadores inflamatorios en el suero.

Con saludos cordiales,



Dra. Judith Cartaya López
Auditora Principal



Dra. Olga Lidia Jacobo Casanueva
Subdirectora de Biológicos



Dr. Rafael Pérez Christie
Director



C.C./ Investigador Principal. Dr. Manuel Díaz Jidy. IPK
Promotor. Dr. Luis G. García Imia. Instituto Finlay
Expediente del EC
Archivo