

VACUNA DE HEPATITIS B: PRODUCTOS REGISTRADOS EN ARGENTINA Y MÉTODOS GENERALES DE VALORACIÓN DE POTENCIA

HEPATITIS B VACCINE: REGISTERED PRODUCTS IN ARGENTINA AND GENERAL METHODS FOR POTENCY ASSESSMENT

María Herminia Mogetta, Paola Cassano, Patricia Aprea.

Dirección de Evaluación y Control de Biológicos y Radiofármacos, Instituto Nacional de Medicamentos, Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.

Contacto: herminiamogetta@hotmail.com

RESUMEN

La infección de hepatitis B, causada por el virus de nombre homónimo, es una de las infecciones virales más graves. Este virus infecta a más de 500 millones de personas en el mundo siendo la causa más frecuente de hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular. A pesar de los esfuerzos orientados al desarrollo de terapias eficientes, actualmente no existe un tratamiento específico para esta enfermedad, por lo que constituye un problema de salud a nivel mundial. Por este motivo, la Dirección de Evaluación y Control de Biológicos y Radiofármacos realizó una revisión bibliográfica acerca de los productos comercializados de la vacuna en nuestro país y los ensayos de control de calidad.

Palabras claves: Virus de Hepatitis B, Registro de Vacunas, Antígeno HBsAg

ABSTRACT

Hepatitis B infection, caused by its namesake virus, is one of the most serious viral infections. This virus affects more than 500 million people in the world which is the most frequent cause of chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Despite efforts aimed at the development of efficient therapies, there is currently no specific treatment for this disease, which is an important global health problem. For this reason, the Directorate of Evaluation and Control of Biologics and Radiopharmaceuticals carried out a literature review about commercialized hepatitis B vaccines in our country and its quality control assays.

Keywords: Hepatitis B virus, Vaccine Registry, HBsAg Antigen

INTRODUCCIÓN

La infección de hepatitis B, causada por el virus de nombre homónimo, es una de las infecciones virales más graves. El virus se replica en el hepatocito provocando un mal funcionamiento del hígado y causando daños por la respuesta inmune que genera. A pesar de los esfuerzos orientados al desarrollo de terapias eficientes, actualmente no existe un tratamiento específico para esta enfermedad, por lo que constituye un problema de salud a nivel mundial^[1].

En nuestro país, la vacunación contra la hepatitis B fue incorporada al Calendario Nacional de Vacunación en el año 2000 por la Resolución 940/00, para su indicación en recién nacidos y lactantes; más tarde, en el marco del Programa de Salud Escolar, a partir del año 2003 y por resolución N° 175/03 también se vacunan los niños de 11 años no inmunizados previamente. Y durante la última actualización del calendario, en el año 2012, se implementó la vacunación universal dirigida a adultos mayores de 20 años.

A nivel internacional, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda su implementación en los calendarios de vacunación y gracias a ello, en los países en los que se ha realizado, se logró reducir notablemente la incidencia de la enfermedad en la población. Por lo tanto, la disponibilidad de la vacuna resulta fundamental para el control de estos cuadros clínicos.

Vacunas para la hepatitis B registradas en Argentina

Actualmente en Argentina existen 5 laboratorios que comercializan vacunas para la hepatitis B y, en su totalidad, son producidas en el exterior. Sólo un laboratorio farmacéutico local produce el antígeno de superficie viral de hepatitis B en el país y exporta la totalidad del mismo para la fabricación de vacunas que luego son comercializadas internacionalmente.

Respecto a la presentación del producto, tres laboratorios comercializan fórmulas monocomponente, es decir que en su composición sólo tienen el antígeno de la hepatitis B (Tabla 1).

TABLA 1: Vacunas recombinantes contra Hepatitis B monocomponente registradas en argentina a mayo 2016

Nombre del producto	Laboratorio	Composición	Vía de administración/ Presentación	País de elaboración
ENGERIX B	Glaxo Smith Kline Argentina S.A.	Antígeno HBsAg	Inyectable 20 µg /dosis	Bélgica
ENGERIX B pediátrico	Glaxo Smith kline Argentina S.A.	Antígeno HBsAg	Inyectable 10 µg /dosis	Bélgica
HB VAXPRO	Merck sharp&Dohme Argentina Inc	Antígeno HBsAg	Suspensión Inyectable (5,10 y 40µg / dosis)	Estados Unidos

En otros casos se comercializan vacunas que contienen el antígeno de la hepatitis B, en combinación con antígenos para la prevención de otras enfermedades (Tabla 2). De ellas, existen tres presentaciones distintas con preparados pentavalentes o hexavalentes (vacunas para la prevención de distintas enfermedades, incluidas en calendarios de vacunación) y una presentación como preparado bivalente para la prevención de la hepatitis A y B.

Como se observa, las concentraciones del antígeno de superficie viral (HBsAg) de las distintas presentaciones de vacunas de hepatitis B varían entre 5, 10, 20 y 40 µg por dosis. En general, las formulaciones de estos productos contienen fosfato, hidróxido o hidroxifosfato de aluminio como adyuvante y en particular, sólo uno de ellos contiene tiomersal como conservante. En relación a este último compuesto, existe cierta controversia debido a su capacidad de interactuar sinérgicamente con el aluminio para producir autoinmunidad en individuos susceptibles.

TABLA 2: Vacunas recombinantes contra Hepatitis B combinadas registradas en Argentina a mayo 2016.

Nombre del producto	Laboratorio	Composición	Vía de administración/ Presentación	País de elaboración
INFANRIX Hexa	GlaxoSmithkline Argentina S.A.	* Toxoide Diftérico * Toxoide Tetánico * Toxoide Pertusis * Hemaglutinina Filamentosa / Pertactina * Antígeno HBsAg * Poliovirus Inactivado * Polisac de <i>Haemophilus Influenzae</i> tipo b	Polvo liofilizado para inyectable / Suspensión para reconstituir en una suspensión inyectable en jeringa precargada 10mcg de AgHB/dosis	Bélgica
TWINRIX ADULTOS	GlaxoSmithkline Argentina S.A	* Antígeno del virus de Hepatitis A * Antígeno HBsAg	Suspensión inyectable 20mcg de AgHB/dosis	Bélgica
TWINRIX PEDIATRICO	GlaxoSmithkline Argentina S.A	* Antígeno del virus de Hepatitis A * Antígeno HBsAg	Suspensión inyectable	Bélgica
HEXAXIM	Sanofi Pasteur SA	*Toxoide Diftérico * Toxoide Tetánico * Toxoide Pertusi * Hemaglutinina Filamentosa * Poliovirus tipo 1, tipo 2 y tipo 3 *Antígeno HBsAg * Polisacárido de <i>Haemophilus Influenzae</i> tipo b	Suspensión inyectable 10mcg/ dosis de AgHB	Francia
HEBERPENTAL	Compañía Argentina de Investigaciones Farmacéuticas	* Anatoxina Diftérica * Anatoxina Tetánica * Células enteras o inactivadas de <i>B. Pertussis</i> * Proteínas Antigénicas de Superficie de Hepatitis B * Conjugado de polirribosilribitol fosfato sintético de <i>H. Influenzae</i> tipo b	Suspensión Inyectable 10mcg/dosis AgHB	Cuba

Métodos de elaboración

La revisión de la documentación de registro de los productos en nuestro país permite confirmar que todas las vacunas que se encuentran en el mercado son obtenidas por tecnología de ADN recombinante (Tabla 3). Adicionalmente, se desprende que sólo una de las vacunas registradas (HEBERPENTAL) contiene tiomersal en su formulación.

TABLA 3: Componentes de las Vacunas comercializadas actualmente en Argentina.

	ENGERIX B (adulto/ pediátrico)	HEBERPENTA-L	HBVAXPRO	TWINRIX	HEXAXIM
Organismo productor	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> 3	<i>Pichia Pastoris</i> 1	<i>Saccharomyces Cerevisiae</i> 3	Cepa HM175?	<i>Hansenula Polymorpha</i> 2
Adyuvante	Hidróxido de Aluminio	Gel de Aluminio	Sulfato de aluminio hidrofosfatado	Hidróxido de Aluminio	-
Tiomersal	-	Si	-	-	-

Evaluación de la potencia de la vacuna de la hepatitis B

Dado que las vacunas son preparaciones que contienen sustancias antigénicas capaces de inducir inmunidad activa específica contra un agente infeccioso, el principio activo de la vacuna de la hepatitis B es un antígeno de la superficie del virus. Uno de los requerimientos regulatorios específicos es la valoración del producto terminado antes de la liberación del lote para su comercialización.

En el caso de la vacuna para la hepatitis B, el ensayo de valoración puede realizarse tanto *in vivo* como *in vitro*.

a) Método *in vivo*

El ensayo *in vivo* es el test de referencia para la evaluación de la potencia. Se trata de un ensayo de inmunogenicidad que se basa en la capacidad que tiene un animal de laboratorio para desarrollar anticuerpos contra el principio activo de la vacuna y se miden por un método inmunológico. Este ensayo requiere la distribución de animales en grupos homogéneos (estudio y control) y la inyección por vía intraperitoneal distintas diluciones (dosis) de la vacuna. Luego de un intervalo, de 4 a 6 semanas en las que los animales permanecen en condiciones controladas, se toman las muestras que pueden ser almacenadas a -20°C hasta el momento de utilizarlas. El suero obtenido se analiza por ELISA para la determinación de respuesta al antígeno^[7] y se calculan los porcentajes de seroconversión. De acuerdo a lo establecido en Farmacopea Argentina, el análisis de datos debe realizarse siguiendo un modelo de líneas paralelas de curvas de respuestas versus logaritmo de la dosis; debe determinarse la potencia de la preparación a ser examinada relativa a la preparación de referencia; y además se debe calcular la potencia relativa y la dosis efectiva que produce el efecto deseado en el 50 % de la población (DE50)^[8].

b) Método *in vitro*

Debido a la creciente tendencia de reemplazo del uso de animales en pruebas de laboratorio y a una mayor facilidad en el análisis, los métodos *in vivo*, desde hace años, están siendo reemplazados por métodos *in vitro*. En nuestro país, organizaciones como la Red Argentina de Métodos Alternativos (RAMA) y la Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio (AACyTAL) están comprometidos con el uso ético y trabajan en esta línea de reducción del uso de animales de experimentación, especialmente en la elaboración de un proyecto de ley en línea con reglamentaciones y estándares internacionales, y acorde a las particularidades de nuestro país.

Este reemplazo sólo se permite siempre que se demuestre fehacientemente a la autoridad sanitaria la correlación entre ambos métodos. Es decir, se debe asegurar que la vacuna que pasa el test *in vitro* también pasaría el de inmunogenicidad (*in vivo*). Además, cuando se realiza el método *in vitro*, las pruebas deben realizarse necesariamente sobre el lote final, a diferencia de los otros que se realizan en el granel final y pueden omitirse en el lote final^[4-6]. En este sentido, y también con el objetivo de disponer de métodos alternativos *in vitro* que sean más rápidos y menos costosos llevó a que, tanto la Farmacopea Europea como la Farmacopea Británica^[2,3], admitieran controles de potencia mediante ambas técnicas en muestras representativas.

Respecto a las técnicas de laboratorio más utilizadas en los métodos *in vitro*, se destacan principalmente las pruebas de aglutinación pasiva, los métodos de radioinmunoensayo o los métodos inmunoenzimáticos. Los materiales requeridos para estos tipos de ensayos son *kits* simples, de fácil uso, costosos y que no son de uso general para todos los tipos de vacunas del mercado. Un ejemplo de ello, es el test de ELISA, en el cual existen particularidades según se trate del análisis del producto a granel o del producto terminado, dado que la presencia de adyuvantes en este último influye en la determinación de contenido de antígeno.

DISCUSIÓN

Uno de los requerimientos regulatorios específicos es la valoración del producto terminado antes de la liberación del lote para su comercialización. Para dicho ensayo, tanto el método *in vivo* como el método *in vitro*, presentan ventajas y desventajas. En líneas generales, los segundos son más rápidos y constituyen una alternativa al uso de animales de laboratorio, tendencia que se impone a nivel mundial. No obstante, los *kits* empleados en estos procedimientos suelen ser de alto costo y las metodologías son desarrolladas por cada laboratorio para sus propios productos, por lo que, en general, no son aplicables a otros productos del mercado cuya composición no es similar. Por otra parte, los ensayos *in vivo*, aplicables a todas las vacunas que se comercializan en Argentina, implican procesos complejos que requieren de instalaciones especializadas, un número elevado de animales de laboratorio, personal altamente entrenado y tiempos de ensayo mucho mayores.

En este sentido, un próximo objetivo dentro de la Dirección de Evaluación y Control de Biológicos y Radiofármacos del Instituto Nacional de Medicamentos será el desarrollo y validación de un método *in vitro* para la determinación de la potencia de la vacuna de hepatitis B, aplicable a todos los productos del mercado, que asegure la calidad y esté en línea con la reducción y/o reemplazo del uso de animales de laboratorio por metodologías alternativas.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Khan T., Jung I. H., Khan A., Zaman G. *Classification and sensitivity analysis of the transmission dynamic of hepatitis B*. Theor Biol Med Model. 2017; 14: 22.
- [2] http://www.msal.gob.ar/dicei/images/stories/equipos-salud/2015-01_uso-timerosal-en-vacunas.pdf
- [3] British Pharmacopoeia. Hepatitis B Vaccine (rDNA)
- [4] WHO Technical Report Series, *Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant hepatitis B vaccines* No. 786 and Annex 4 of WHO Technical Report Series, No. 889
- [5] WHO Technical Report Series, *Requirements for Hepatitis B vaccine prepared from plasma*. No. 771. 1988
- [6] WHO Technical Report Series, *Requirements for Hepatitis B vaccine made by recombinant DNA techniques in yeast*. No. 760. 1987
- [7] Mabel Izquierdo-López, Karelía Cosme-Díaz, Gerardo García-Illera, Zoe Núñez-Lamotte, Yamila Martínez-Cuéllar, Maribel Vega-Simón, Lourdes Costa-Anguiano, Marisel Quintana-Esquivel, Ileana Rosales-Torres, Omar Mosqueda-Lobaina. Establecimiento de un ensayo de potencia *in vivo* para el antígeno de superficie recombinante del virus de la Hepatitis B, en vacunas monovalentes y combinadas. Finlay Ediciones. 2014.
- [8] Farmacopea Argentina. 8va edición. Vacuna Contra la Hepatitis B AND recombinante.