

SEGURIDAD E INMUNOGENICIDAD EN ENSAYOS CLÍNICOS DE VACUNAS PARA DENGUE:
REVISIÓN SISTEMÁTICA

Janeth Catalina Reyes Castaño. B.Sc.

Trabajo de grado para optar al título de Magister en Microbiología y Bioanálisis

Asesora

Marlen Martínez Gutiérrez. B.Sc. M.Sc. PhD
Docente Universidad Cooperativa de Colombia. Sede Bucaramanga

Universidad de Antioquia
Escuela de Microbiología
Medellín
2015

Título:

Seguridad e inmunogenicidad en ensayos clínicos de vacunas para Dengue: Revisión sistemática

Estudiante

Catalina Reyes

Tutor:

Marlen Martínez-Gutiérrez. Universidad Cooperativa de Colombia. Sede Bucaramanga.

Miembros del Comité Tutorial

- Jaiberth Cardona. Universidad Cooperativa de Colombia. Sede Medellín. Universidad de Antioquia
- Juan Álvaro López Quintero. Universidad de Antioquia.
- Diana Carolina Quintero Gil. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín

Autor para correspondencia:

Marlen Martínez-Gutiérrez B.Sc. M.Sc. PhD.

Calle 30A # 33-51.

Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia.

Phone/Fax: +57-7-6356624

Email: marlen.martinezg@campusucc.edu.co

Con toda gratitud

A mis profesores y personal de la biblioteca que me ayudaron y guiaron en el proceso de formación,

A mi familia que me acompaño y me cuida,

A mi Dani por su apoyo y amor incondicional, por ser el ancla de mi vida...

Tabla de contenido

Resumen	9
1. Introducción	10
2. Metodología	12
2.1 Criterios de exclusión y de inclusión	12
2.2 Búsqueda de la literatura	13
2.3 Recolección de datos	14
2.4 Evaluación de la calidad metodológica. Validez	15
2.5 Tratamiento de datos	15
3. Resultados	16
3.1 Descripción general	16
3.2 Evaluación de la calidad metodológica	17
3.3 Seguridad	18
3.4 Inmunogenicidad	19
3.4.1 Vacunas tetravalentes	19
3.4.2 Vacunas monovalentes	20
3.4.2.1 Vacunas monovalentes para DENV-1	20
3.4.2.2 Vacunas monovalentes para DENV-2	21
3.4.2.3 Vacunas monovalentes para DENV-4	21
3.4.2.3 Otras formulaciones	21
4. Discusión	22
5. Conclusión	28
Agradecimientos	31
Referencias bibliográficas	32

Lista de figuras

Figura 1. Diagrama Prisma	36
Figura 2. Porcentaje de estudios según el tipo de vacuna evaluada	37
Figura 3. Síntomas locales más reportados en los estudios incluidos en la revisión	38
Figura 4. Síntomas sistémicos más reportados en los estudios incluidos en la revisión	39
Figura 5. Valores de GMTs en relación al número de voluntarios en los estudios para vacunas tetravalentes disponibles, según respuesta a cada serotipo viral	40
Figura 6. Porcentaje de seropositividad en relación al título de media geométrica reportada. Según casa farmacéutica.	41

Lista de tablas

Tabla 1. Descripción general de los artículos incluidos en la revisión	42
Tabla 2. Diferentes tipos de formulación relacionadas con las fases de desarrollo	45
Tabla 3. Edad de los voluntarios incluidos en los estudios analizados en relación a la fase de desarrollo de cada estudio	46
Tabla 4. Descripción de los aspectos tenidos en cuenta para la evaluación de la calidad metodológica en los ensayos clínicos controlados	47
Tabla 5. Descripción de los aspectos tenidos en cuenta para la evaluación de la calidad metodológica en los ensayos clínicos no controlados	49
Tabla 6. Resumen de resultados de inmunogenicidad y seguridad de los estudios tetravalentes de vacunas para dengue.	50
Tabla 7. Resumen de resultados de inmunogenicidad y seguridad de los estudios de vacunas monovalentes para DENV-1.	52
Tabla 8. Resumen de resultados de inmunogenicidad y seguridad de los estudios de vacunas monovalentes para DENV-2.	53
Tabla 9. Resumen de resultados de inmunogenicidad y seguridad de los estudios de vacunas monovalentes para DENV-4.	54
Tabla 10. Resumen de resultados de inmunogenicidad y seguridad de otras formulaciones	55

Lista de Anexos

Anexo 1. Deserción en estudios con formulación tetravalente por eventos adversos	56
Anexo 2. Deserción en estudios de vacunas monovalentes para DENV-1 por eventos adversos	57
Anexo 3. Deserción en estudios de vacunas monovalentes para DENV-2 por eventos adversos	58
Anexo 4. Deserción en estudios de vacunas monovalentes para DENV-4 por eventos adversos	59
Anexo 5. Deserción en estudios de otras formulaciones por eventos adversos	60
Anexo 6. Lista de chequeo Prisma 2009	61

Glosario

Ensayos clínicos fase I: Evalúan seguridad y tolerancia, se realizan en zona endémica o no, se realizan inicialmente en adultos con menos de 50 voluntarios

Ensayos clínicos fase II: Evalúan inmunogenicidad, seguridad y calendario de vacunación, se realiza en zonas endémicas y el seguimiento se debe realizar por dos años, los estudios fase 2B pueden ser realizados en población vulnerable como la población infantil, tiene un aproximado de 100 voluntarios

Ensayos clínicos fase III: evalúan inmunogenicidad seguridad y eficacia, son estudios previos a la licencia, el número de voluntarios depende del estudio, no compara entre 2 comunidades y los estudios se realizan en individuos y zonas de alto riesgo

Ensayos clínicos fase IV: Son ensayos pos comercialización, evalúan seguridad, vigilancia y efectividad

Inmunogenicidad: Describe la capacidad de la vacuna para estimular el sistema inmune, el anticuerpo neutralizante se considera el mecanismo inmunológico más relevante protección contra el dengue (marcador de protección), la medición de Ac neutralizantes recomienda la OMS se realice por (plaque reduction neutralization test) PRNT 50

Seroconversión: cualquier aumento en el título de anticuerpos, se correlaciona con la transición de seronegativos seropositivos, proporcionan información sobre la inmunogenicidad de una vacuna

Seguridad se define como reacciones locales y sistémicas producidas por la vacunación, los daños producidos por la vacunación se definen por eventos adversos graves o inesperados basados en reacción clínica local, sistémica o valores anormales del laboratorio

RESUMEN

Introducción: A pesar del gran número de estudios con miras a licenciar una vacuna para el Dengue, hasta el momento no hay ninguna licenciada. Uno de los obstáculos es la variabilidad de los estudios, lo que dificulta su análisis en conjunto para llegar a conclusiones confiables. Además la aceptación de la CYD-TDV como una de las vacunas más prometedoras debería ser confirmada en comparación con los otros estudios publicados que evalúan diferentes vacunas. **Objetivo:** Desarrollar una revisión sistemática de literatura que permita analizar la seguridad e inmunogenicidad de las diferentes vacunas para Dengue, así como las características de los ensayos clínicos que se encuentran fase clínica de desarrollo. **Metodología:** La búsqueda de información fue realizada en Cochrane Library, Scopus, Science Direct, PubMed, Nature, Lilacs y OvisSp, con términos de Seguridad, Inmunogenicidad y Dengue extraídos del DESC y por metodología de cosecha de perlas. Los artículos fueron almacenados en el programa de manejo de referencias bibliográficas Mendely. De acuerdo a los criterios de inclusión, dos revisores seleccionaron los artículos y se relazó la evaluación de la calidad por método de bloque y la extracción de información en un archivo plano de Excel. **Resultados:** Los criterios de búsqueda arrojaron un total de 4.766 artículos, de los cuales se incluyeron solo 42 en el análisis. De estos estudios 40 (95,2%) son ensayos clínicos controlados con calidad metodológica moderada y solo 2(4,8%) corresponde a ensayos clínicos no controlados de baja calidad. 54.8% de los estudios evaluaron formulación tetravalente y de todos los estudios el 27 (64.3%) eran de fase I, 12 (28.6%) de fase II, 2 (4.8%) de fase III y 1 (2.4%) no la reportaba. La seguridad de la vacuna se evaluó teniendo en cuenta síntomas locales como eritema (61.9%), dolor (45,2%) y sensibilidad (42,9%), entre otros; o sistémicos como fiebre (83.3%), dolor de cabeza (73.8%) y mialgia (61.9)% entre otros. La inmunogenicidad, se determinó por la presencia de anticuerpos neutralizantes. De los 23 estudios con formulación tetravalente el 60.9% de los estudios es realizado por la casa comercial Sanofi Pasteur, quien muestra un perfil de seguridad e inmunogenicidad aceptables con la vacuna CYD-TDV, que se encuentra en fase III de experimentación. Otros de los estudios que sobresalen son los realizados por la casa farmacéutica GlaxoSmithKline, con un 26,1% de estudios que evalúan vacunas tetravalentes, siendo una vacuna viva atenuada la que ha alcanzado la fase II de desarrollo. **Conclusiones:** Se encontró una gran variabilidad en los estudios en relación a diseño y reporte de datos de seguridad e inmunogenicidad. En relación a las características de seguridad los principales síntomas locales reportados en los estudios incluyen eritema, dolor y sensibilidad. Y en relación a los síntomas sistémicos los más reportados son fiebre, dolor de cabeza y mialgia. Para las características de inmunogenicidad se encontró discrepancia en la definición de seropositividad razón por la cual la comparación de esta variable entre estudios no se realiza, en cuanto a los GMT gran variabilidad fue encontrada, los estudios reportan medias geométricas con intervalos de confianza muy amplios que muestra la alta heterogeneidad en la respuesta. A la fecha la vacuna tetravalente recombinante CYD-TDV de la casa farmacéutica Sanofi Pasteur es la que mayores avances ha logrado induciendo altos títulos de anticuerpos neutralizantes, sin embargo los resultados de eficacia son cuestionables, razón por la cual se considera que los GMT no son la mejor medida indirecta de correlación de eficacia de la vacunación.

PALABRAS CLAVE

DENV/ Vacuna/ Seguridad/ inmunogenicidad/ GMT (títulos de media Geométrica).

1. INTRODUCCIÓN

El Dengue es la enfermedad viral transmitida por vectores (arbovirosis) de mayor importancia en el mundo, debido a la competencia del vector y a la facilidad con que coloniza nuevos hábitats, también debido a su impacto, persistencia en la población y falta de terapia eficaz o mecanismo de prevención disponible. Estas últimas razones han hecho que el Dengue sea considerada por la OMS como una de las enfermedades desatendidas y es uno de los objetivos del nuevo milenio. Esta enfermedad es producida por el Virus Dengue (DENV), virus que pertenece a la familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus*, el cual es transmitido por mosquitos hematófagos del género *Aedes*, siendo los más frecuentes *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Estructuralmente el DENV mide alrededor de 50nm, posee una simetría icosaédrica y una envoltura lipídica. Su genoma es RNA de cadena sencilla y sentido positivo, el cual codifica para tres proteínas estructurales (entre ellas las proteína M y E, consideradas como sus mayores determinantes antigénicos) y siete no estructurales (1-3). Aunque en general se habla de la existencia de cuatro serotipos en el ciclo urbano viral (DENV-1 a DENV-4) los cuales son antigénicamente relacionados pero genéticamente distintos (4), recientemente se ha reportado la existencia de un quinto serotipo (DENV-5) que estaría realizando un ciclo selvático (5).

Los serotipos DENV-1 a DENV-4 presentan una similitud de 67-73% en relación a los nucleótidos y de 67-78% entre los aminoácidos (3, 6). Por otro lado, si se tienen en cuenta las secuencias de la proteína E (las cuales son utilizadas para la distinción de serotipos), se ha reportado una similitud entre el 60-70% (2, 3, 6). Estas diferencias presentadas entre serotipos podrían variar el perfil clínico y epidemiológico de la enfermedad y en ese sentido, se ha reportado que DENV-2 y DENV-3 pueden ocasionar enfermedad más severa y que DENV4 produce la enfermedad más leve (7).

La enfermedad causada por cualquiera de los primeros cuatro serotipos, puede variar desde una forma asintomática, pasando por una fiebre aguda auto limitada que puede desencadenar en una hemorragia que pone en riesgo la vida. Por la dificultad en la identificación de pacientes con mal pronóstico, la OMS reclasificó la enfermedad en el 2009 en dengue grave y no grave, siendo el no grave dividida en dos subgrupos: dengue no grave con signos de alarma y sin ellos (8). Esta clasificación facilita la toma de decisiones clínicas, la notificación al sistema de vigilancia epidemiológica y sirve como una medida final en los ensayos de vacunas y medicamentos para dengue (8, 9). A pesar de este importante esfuerzo, la clasificación de dengue grave y de dengue con signos de alarma incluye definiciones amplias y pocas precisas, las cuales son necesarias para categorizar adecuadamente la fisiopatología de la inmunopatogénesis en los ensayos de vacunas. Además, teniendo en cuenta que esta clasificación se usa desde el 2009, la comparación de estudios de vacunas realizados antes de y después de esa fecha se dificulta; por las diferencias conceptuales de la antigua y la actual clasificación (10).

Una vacuna para dengue es prioridad en materia de salud pública. Por la reemergencia de esta enfermedad la mitad de la población mundial está en riesgo de padecerla. Su prevalencia exacta es desconocida debido a las deficiencias en los sistemas de diagnóstico, vigilancia y reporte. Sin embargo, a nivel mundial se estima que 100 países son endémicos y que ocurren entre 50 y 100 millones de infecciones anualmente en el mundo y hay un aproximado de 120 millones de viajeros expuestos a la infección cada año. Esto hace que más de 500.000 personas sean hospitalizadas en el mundo por padecer la enfermedad, lo que genera un gran impacto económico, y de esos casos el 5% llegan a ser mortales, principalmente en menores de 15 años (11-13).

Este panorama se hace más preocupante por diferentes factores que afectan la reemergencia, como los cambios climáticos y ecológicos, que han permitido que haya un aumento de la densidad de mosquitos y que se genere resistencia a insecticidas, además de factores asociados al hospedero como los cambios demográficos, la urbanización, los viajes y sobre todo la inexistencia de tratamientos efectivos disponibles y de vacunas licenciadas. Todos estos factores hacen que aumente la ocurrencia de casos, presentándose el dengue en países que se consideraban libres y en aquellos ya endémicos, se aumentó la frecuencia de los focos epidémicos de 3-5 años a ciclos de solo 2 años (10, 11, 13, 14).

Aunque es inminente la importancia de tener una vacuna, a la fecha no hay una disponible. La dificultad para su desarrollo se debe a varios factores, entre los que se encuentran: primero, la cocirculación de los cuatro serotipos, porque una vacuna debería ser eficaz contra todos ellos. Segundo, el complejo entendimiento de la respuesta inmunoprotectora o inmunopatogénica post-vacunación, la cual podría desencadenar el fenómeno conocido como Potenciación Dependiente de Anticuerpos responsable en gran parte del desarrollo de dengue grave y tercero: el incompleto conocimiento de la biología del virus, pues podría generarse el mecanismo conocido como interferencia viral (replicación de uno o más serotipos de manera más eficiente) en individuos vacunados (10, 15).

A pesar de estas dificultades, posibles candidatos de vacunas se encuentran en fase de desarrollo clínica o preclínica. Estos candidatos incluyen dos tipos de formulaciones, las monovalentes (vacunas que en el biológico solo tienen un serotipo, pero su objetivo es evaluar la formulación para posteriormente hacerla parte de una tetravalente) y las tetravalentes (una sola vacuna para los cuatro serotipos virales). Además del tipo de formulación, estos candidatos se pueden clasificar de forma general en cinco grupos: 1. vacunas vivas atenuadas (por pasaje celular serial y mutagénesis directa que incluye la delección de 30 nucleótidos en el 3' UTR o por la inserción de las regiones PrM y E en una cepa de la vacuna del Virus de Fiebre Amarilla, o en una cepa atenuada de DENV); 2. Vacunas purificadas inactivadas; 3. Vacunas de subunidades recombinantes, 4. Vacunas basadas en vectores virales y; 5. vacunas de DNA (10).

La mayoría de los estudios de desarrollo y evaluación de vacunas, presentan importantes diferencias en el diseño metodológico. Entre ellas se encuentran el tamaño de la población, las características demográficas de los participantes incluidos, el estatus inmune (infección previa o exposición previa a flavivirus) de los mismos, entre otros. Adicionalmente también se observan diferencias en las metodologías empleadas para evaluar la respuesta a la vacunación; y finalmente, diferencias en la manera de reportar los eventos adversos (seguridad) y los resultados de la respuesta inmune (inmunogenicidad), que dificulta una comparación entre los estudios, y hace que un meta-análisis solo sea posible de realizar en un pequeño grupo de estudios (10).

La alta heterogeneidad de los ensayos clínicos, en relación a los diferentes parámetros que reportan en cuanto a seguridad o las diferentes formas de medir y reportar la inmunogenicidad, podría estar asociada con el desconocimiento de la respuesta inmune/patológica relacionada con la vacunación o con la enfermedad. Por ello, explorar las variaciones de los ensayos clínicos que se han publicado permitirá entender que parámetros se han evaluado y que podrían estar más asociados con la vacunación.

Por estas razones se realizó una revisión sistemática sobre ensayos clínicos de vacunas diseñadas para intervenir el problema del dengue, esto permitirá describir las características de los ensayos clínicos controlados o no controlados que se han realizado hasta la fecha, estas características incluyen: el diseño del estudio, tipo de vacuna, características de la población, además de los parámetros que se han empleado para evaluar la seguridad y la inmunogenicidad de las diferentes vacunas para dengue. Los resultados obtenidos, a su vez, podrían ser de gran utilidad a los investigadores que inicien el desarrollo de ensayos clínicos de dengue, pues podrían darles pautas sobre que parámetros evaluar y que hayan sido empleados con anterioridad, cuál sería la forma más apropiada de diseñar sus ensayos clínicos, como deben ser reportados los resultados, entre otros aspectos, de modo que en un futuro estos estudios puedan ser comparados. Además, debido a que las revisiones sistemáticas permiten obtener conclusiones menos sesgadas, este trabajo permite mostrar las características y resultados de los estudios realizados, con lo que se pretende tener mayor evidencia de cómo se están realizando los ensayos clínicos de vacunas para dengue, y derivado de esto identificar cuál es posiblemente la mejor vacuna.

2. METODOLOGÍA

La elaboración del protocolo se realizó siguiendo la guía PRISMA (16, 17) y la guía de la OMS de vacunas para dengue (19).

2.1. Criterios de inclusión y de exclusión

Los estudios elegibles inicialmente deberían incluir tanto en su título como resumen, alguno de los términos de la estrategia de búsqueda los cuales fueron seleccionados con base en PICO. Esta estrategia permitió identificar que eran ensayos clínicos y que eran de vacunación para dengue. En una segunda revisión, se incluyó todo tipo de ensayo clínico (controlado, no controlado, aleatorizado o no aleatorizado), independiente de las características demográficas de los voluntarios (como edad y género) y de la región donde se realizaron los estudios (endémica/no endémica). En cuanto a la intervención o el tratamiento que recibieron los voluntarios, los estudios incluidos podían evaluar cualquier tipo de formulación (tetravalente/monovalente), usar cualquier tipo de vacuna (según la clasificación explicada anteriormente), diferente calendario de vacunación (intervalos de los refuerzos), cualquier dosis, o cualquier vía de administración. En relación a los resultados, los estudios incluidos debían reportar parámetros de seguridad/reactogenicidad (diferenciando entre efectos locales y sistémicos) y parámetros de inmunogenicidad (seropositividad, tasa de seropositividad, seroconversión) además de Títulos de Media Geométrica (GMT) como indicador indirecto de eficacia de la vacunación. El año de publicación de los estudios no fue tomado en cuenta ya que la estrategia de búsqueda no tuvo restricciones en cuanto al tiempo ni el idioma con el fin de garantizar mayor exhaustividad de la búsqueda.

Los criterios de exclusión que se tuvieron en cuenta para la eliminación de artículos fueron los siguientes: Ensayos clínicos de vacunación que solo evaluaron producción de citoquinas o respuesta de células T y no midieran GMT; ensayos clínicos que evaluaron la respuesta a la inoculación de cepas virales para evaluar infección después de haber recibido un candidato de vacuna, estudios derivados de un ensayo clínico en los cuales evaluaron la respuesta inmune celular con el fin de justificar la reactogenicidad de una vacuna; ensayos clínicos en los cuales solamente se aplicaron refuerzos vacunales, estudios de costos de vacunación y estudios de respuesta inmune no asociados a vacunación.

2.2. Búsqueda de literatura.

La búsqueda se realizó entre junio y diciembre de 2014, se incluyeron todos los artículos publicados hasta junio de 2014 en: Cochrane Library, Scopus, Science Direct, PubMed, Nature, Lilacs y OvisSp (bases de datos recomendadas por expertos en el tema), Sin embargo, es importante resaltar que las bases de datos de Scopus y Science Direct a pesar de ser de Elsevier, presentan diferencias. Es así como Scopus, que solo es de citas incluye mucho más contenido que Science Direct que ofrece búsquedas documentadas, potentes y con más precisión. Por otro lado, también se emplearon Science Direct y Pubmed (ambas pertenecientes a Medline) ya que Science Direct utiliza lenguaje natural similar a una búsqueda en Google, y no tiene un vocabulario controlado como Medical Subject Headings (MeSH) (lo que si tiene PubMed; esto podría permitirnos identificar artículos que en uno o en otro no encontremos, además es importante tener claro que los artículos cedidos a PubMed necesariamente no son los mismos que los cedidos a Science Direct. De igual forma si Nature (como revista) está contenida en Pubmed no garantiza que toda la información se encuentre en ella, debido a que como revista se ceden ciertos números de revistas, pero Nature como grupo incluye otras revistas que pueden proporcionar más información. Por estas razones se consideró que, para garantizar la exhaustividad de la revisión, se requiere de la búsqueda en cada una de esas bases de datos.

La búsqueda realizada no tuvo restricción de idioma, ni de fecha de publicación. Sin embargo, solo se incluyeron estudios con texto completo, para garantizar la obtención de toda la información necesaria para nuestro estudio. Además de la búsqueda sistematizada en estas bases de datos, una búsqueda manual también se llevó a cabo, para poder incluir diferentes estudios clínicos, que hubieran sido citados en los artículos obtenidos por la revisión sistemática.

Se realizaron tres estrategias de búsqueda las cuales incluyeron el término *Dengue* que fue considerado como término principal, unido mediante el conector booleano *AND* con términos de *Seguridad* en la primera estrategia, de *Inmunogenicidad* en la segunda y de *Vacunación* en la tercera.

Tanto al término principal, como a los tres términos que se conjugaron con él, se les buscaron diferentes sinónimos o términos relacionados a través del método de cosecha de perlas; procedimiento en el cual se toman artículos relacionados de relevancia y se encuentran palabras clave que sean evaluadas como pertinentes y que son utilizados como descriptores y por la búsqueda en tesauros como DECS (18). Cada palabra sinónima o relacionada se unió mediante el conector booleano *OR*.

Para el término *Dengue* se emplearon 7 términos relacionados (dengue, DENV, dengue virus, dengue infection, flavivirus dengue, dengue fever y dengue vaccines); para el término de *Seguridad* también se usaron 7 términos relacionados (neurovirulence, hepatotoxicity, viremia, infectivity, adverse events, tolerated, safety); para el término *Inmunogenicidad* se emplearon 28 términos relacionados (neutralizing antibody, antibody dependent, antibody, neutralization, protective immunity, immune response, protective efficacy, protective, prevention, antigenicity, immunogenicity, immunomodulator, immunologic, immunogenic, immune sera, reactogenicity, immunological studies, immunity, efficacious, efficacy, dose response study, phagocytic activity, cell mediated immunity, innate, adaptive cellular immunity, leukocytes, CD4, CD8 y T lymphocytes) y, finalmente para el término *Vacunación* se emplearon 22 términos relacionados (vaccin, vaccination, virus vaccine, viral vaccines, candidate vaccine, viral subunit vaccines, DNA vaccines, live attenuated vaccine,

recombinant vaccinia, recombinant live, chimeric virus, recombinant tetravalent, chimeric virus, live attenuated chimeric, inactivated vaccine, immunized, immunization, biological products, control, prevent infection, clinical trial y randomized).

De los anteriores términos seleccionados es importante aclarar que a pesar que la mayoría de trabajos de vacunas evalúan la respuesta del biológico a través de la producción de anticuerpos neutralizantes, cualquier efector, parámetro de la memoria central e inmunidad mediada por células puede correlacionarse con la protección. El tipo de inmunidad efectuada depende de la naturaleza de la vacuna. Es por esta razón que términos como: “phagocytic activity, cell mediated immunity, innate, adaptive cellular immunity, leukocytes, CD4, CD8 y T lymphocytes”, que se asocian con el término de respuesta inmune a vacunas, son incluidos en la búsqueda, esto permite identificar que otros parámetros además de anticuerpos neutralizantes se están evaluando en los ensayos clínicos de dengue, además permite garantizar exhaustividad ya que sin importar la naturaleza de la vacuna evaluada los parámetros de inmunogenicidad posiblemente evaluados estarán incluidos en la estrategia de búsqueda (19).

Por recomendaciones de la guía prisma una estrategia completa de búsqueda es mostrada: esta fue realizada en la base de datos Pubmed para los términos “dengue infection” unidos con el operador booleano AND a los términos relacionados con vacunación.

- (Dengue infection) AND (vaccin* OR vaccination OR virus vaccine OR viral vaccines OR candidate vaccine OR viral subunit vaccines OR DNA vaccines OR live attenuated vaccine OR recombinant vaccinia OR recombinant live OR chimeric virus OR recombinant tetravalent OR live attenuated chimeric OR inactivated vaccine) Results 23. Filters activated: Clinical Trial, Clinical Trial, Phase I, Clinical Trial, Phase II, Clinical Trial, Phase III, Clinical Trial, Phase IV, Controlled Clinical Trial, In Vitro, Interview, Pragmatic Clinical Trial, Randomized Controlled Trial, Humans. Clear all to show 803 items.

- (dengue infection) AND (immunized OR immunization OR biological products) 15 results Filters activated: Clinical Trial, Clinical Trial, Phase I, Clinical Trial, Phase II, Clinical Trial, Phase III, Clinical Trial, Phase IV, Controlled Clinical Trial, In Vitro, Interview, Pragmatic Clinical Trial, Randomized Controlled Trial, Humans. Clear all to show 473 items.

- (dengue infection) AND (control OR Prevent infection) 22 results Filters activated: Clinical Trial, Clinical Trial, Phase I, Clinical Trial, Phase II, Clinical Trial, Phase III, Clinical Trial, Phase IV, Controlled Clinical Trial, In Vitro, Interview, Pragmatic Clinical Trial, Randomized Controlled Trial, Humans. Clear all to show 1161 items.

- (dengue infection) AND (clinical trial OR randomized) results: Filters activated: Clinical Trial, Clinical Trial, Phase I, Clinical Trial, Phase II, Clinical Trial, Phase III, Clinical Trial, Phase IV, Controlled Clinical Trial, In Vitro, Interview, Pragmatic Clinical Trial, Randomized Controlled Trial, Humans. Clear all to show 79 items.

Como se puede observar el término vacunación con sus 22 descriptores no es aceptado en la base de datos, por esta razón se deben realizar varias búsquedas con los términos hasta completar la búsqueda con los 22 descriptores.

2.3. Recolección de datos

Para la selección de los estudios, todos los artículos fueron organizados en el programa Mendeley y aquellos duplicados fueron identificados y eliminados. Después para garantizar la reproducibilidad en la selección de los artículos, dos autores revisaron los artículos seleccionados por título y resumen y

eliminaron los que cumplían con algún criterio de exclusión. En caso tal de haber desacuerdo por algún estudio, un tercer autor fue convocado para solucionar esta discordancia.

Para cada artículo la extracción de información se realizó en un archivo plano de Excel, para confirmar la información extraída un segundo evaluador realizó la extracción de la información de 20 artículos (54,8%) con formulación tetravalente (por ser los que más datos contenían y eran candidatos a meta-análisis), la discordancia fue de un artículo que fue nuevamente revisado, esto arrojó un índice Kappa de 0.95. El formulario de extracción de la información incluyó los datos generales del estudio, número de voluntarios y edad de la población, zona donde se realizó el ensayo clínico, tipo de vacuna, vacuna evaluada y casa farmacéutica que financia el estudio. El principal parámetro de inmunogenicidad que se tuvo en cuenta fueron los títulos de media geométrica (GMT) y la tasa de seropositividad, sin ser considerado criterio de exclusión el no reportar cualquiera de los dos parámetros ya que esto permite describir las diferencias en el diseño de estudios. El reporte de seguridad se entiende como síntomas locales, sistémicos.

2.4. Evaluación de la Calidad Metodológica validez

Para asegurar la calidad de los estudios incluidos, se empleó una adaptación de las Herramientas de la Colaboración Cochrane (para evaluar el riesgo de sesgo en los ensayos aleatorios), de las listas de chequeo CASP (tema claramente enfocado, el mismo tratamiento a los grupos, aleatorización, cegamiento, resultados completos, claros) , de las guías de la OMS (además de los anteriores se incluyen número de participantes, abandonos) y de las guías de vacunación para dengue (resultados de inmunogenicidad como GMT y seropositividad, además se incluyó el reporte de línea de base y de resultados del control por la idea de realizar meta-análisis (20-22).

Por otro lado, para evaluar la calidad de los ensayos clínicos no controlados solo se tuvo en cuenta los criterios de la guía de la OMS, para los cuales se evaluó si el tema en el estudio fue claramente enfocado, descripción de características demográficas, número de participantes, en relación a los resultados reportados se evaluó si reportaban seropositividad, GMT, reporte de resultados de línea de base, también si hubo suspensión del ensayo o abandonos

2.5. Tratamiento de los datos

Para la realización del análisis de seguridad los datos extraídos se organizaron en variable dicotómica (reporta/no reporta), se hizo análisis de frecuencias y finalmente se reportaron como datos descriptivos. Para los datos de inmunogenicidad los estudios fueron agrupados según el tipo de formulación (monovalente para cada serotipo y tetravalente). Los GMT y los intervalos de confianza fueron recalculados para cada estudio o tomados directamente de cómo estaban reportados. Para la inmunogenicidad se revisó la definición empleada por cada estudio y posteriormente el dato fue extraído con la anotación de la definición. Los datos fueron manejados en Excel.

3. RESULTADOS

3.1. Descripción general

La búsqueda se realizó entre el 2 de junio con fecha final 20 de diciembre de 2014 y arrojó 4.702 artículos, de los cuales 1314 estaban duplicados por lo que fueron eliminados. Los 3388 restantes, fueron seleccionados por título y resumen y de ellos, 3330 fueron eliminados según criterios de exclusión, quedando 58 artículos, de los cuales son eliminados 16 por diferentes razones (no se contaba con texto disponible, ni respuesta de los autores, eran resumen de poster, carta al editor, serie de casos o porque al revisar el texto completo no cumplían con los criterios inclusión) (Figura 1). Los 42 artículos finales que se incluyeron en la revisión fueron publicados entre 1983 y 2014. La descripción general de los estudios incluidos puede observarse en la tabla 1. Para los análisis de calidad metodológica estos artículos se dividieron en ensayos clínicos controlados (40 artículos) y no controlados (2 artículos), el análisis de seguridad se realizó por análisis de frecuencias, extrayendo en Excel los síntomas reportados en cada estudio y para el análisis de inmunogenicidad los estudios se dividieron según el tipo de formulación con el fin de agruparlos por inmunogenicidad por serotipo (16, 17).

De los 42 estudios incluidos, 23 (54.8%) evaluaron formulaciones tetravalentes, 14 (33.3%) evaluaron formulaciones monovalentes (un solo serotipo incluido en el biológico), 2 (4.8%) evaluaron formulación monovalente de cuatro serotipos (los 4 serotipos aplicados pero cada uno en vacuna independiente) y en combinación con tetravalente (las cuatro vacunas aplicadas en monovalente ahora se mezclan en una formulación tetravalente) y 3 (7,1%) evaluaron varias formulaciones en monovalentes (es decir varios serotipos como vacunas independientes). De los 14 estudios que evaluaron formulaciones monovalentes, 4 (28.6%) eran para DENV-1, 6 (42,8%) para DENV-2 y 4 (28,6%) para DENV-4. No se encontró ningún estudio que evaluara formulación monovalente solo para DENV-3 (este serotipo es probado en los estudios que evalúan todas las formulaciones en monovalente).

Los estudios también fueron clasificados según las fases de desarrollo: 27 (64.2%) eran de fase I, 12 (28.6%) de fase II, 2 (4.8%) de fase III y 1 (2.4%) no reportaba la fase de desarrollo. Al relacionar el tipo de formulación con la fase de desarrollo, se encontró que el 23,8% de todos los estudios tenían formulación tetravalente en fase I de desarrollo, 26,2% tenían formulación tetravalente y se encuentran en fase II y tetravalentes en fase III solo 4,8%, para las formulaciones monovalentes o las que prueban varias monovalentes o monovalentes con tetravalentes encontramos que de todos los estudios tienen un 40.5% en fase I de desarrollo, 2,4% no reportan la fase y solo 2.4% en fase II de desarrollo para estas formulaciones no hay estudios en fase III (Tabla 2).

Los estudios también fueron clasificados según la edad de los voluntarios incluidos. De los 42 estudios, 30 (71,4 %) fueron realizados en población adulta, 2 (4,8%) en población infantil, 2 (4,8%) en población juvenil, 4 (9,5%) en población infantil y juvenil y 4 (9,5%) en población de todas las edades. Al relacionar las edades de los voluntarios incluidos con las fases de desarrollo, se encontró que de los 27 estudios en fase I, 23 (85.2%) fueron realizados en adultos, 2 (7.4%) fueron desarrollado en niños y 2 (7.4%) en población de todas las edades (2 a 45 años). De los 12 estudios en fase II, 6 (50,0%) fueron realizados en adultos, 2 (16.7%) en adolescentes, 2 (16,7%) en niños y adolescentes y 2 (16.7%) en voluntarios de todas las edades. Por otro lado, los únicos dos estudios en fase III, fueron realizados en población infantil y juvenil, y el estudio que no reportó la fase de desarrollo, fue realizado en adultos (Tabla 3).

Finalmente, los tipos de vacunas utilizados en los estudios fueron clasificados según criterios descritos previamente (10) con algunas modificaciones. De acuerdo a ello se tuvieron en cuenta cinco grupos: 1. Vacunas vivas obtenidas por pasaje serial (35,7%); 2. Vacunas recombinantes (33,3%), 3. Vacunas obtenidas por delección de 30 nucleótidos y/o que combinan delección de 30 nucleótidos con quimérica (21,4%). 4. Vacunas quiméricas (4.8%) y 5. Vacunas de DNA (2.4%). Solo el 2.4% de los estudios no especifican como se atenúa la vacuna usada. De estas vacunas; solo una (vacuna recombinante) se ha evaluado en un ensayo clínico controlado fase III (Figura 2).

3.2. Evaluación de la calidad metodológica

Se diseñó un formulario para revisar cada uno de los artículos seleccionados y la evaluación de la calidad metodológica de los ensayos clínicos controlados se realizó teniendo en cuenta los criterios descritos por las listas de chequeo CASPe, NICE, las guías de la OMS, las guías de vacunación para dengue y los parámetros descritos por Cochrane para la evaluación de calidad por bloques.

En resumen, para esta evaluación se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos: Para evaluar el *sesgo de selección (validez)* se revisó si los artículos tenían el tema claramente enfocado, si fueron realizados de forma aleatoria y si los grupos tenían características similares; para el *sesgo de realización* se evaluó si había doble cegamiento y si los grupos recibieron el mismo tratamiento; para el *riesgo de deserción* se tuvieron en cuenta los abandonos y la suspensión del ensayo, para la *precisión*, se tuvo en cuenta el número de voluntarios incluidos; y, finalmente, con relación a los *resultados reportados* se verificó si se medía seropositividad, GMT, si se reportaban los resultados del grupo control y si se reportaban los resultados de medición inicial antes de comenzar la vacunación (línea de base). Estos datos fueron revisados por bloques con el fin de hacer una aproximación a la calidad metodológica general. La descripción de las características generales de los estudios incluidos y los resultados para cada uno de los parámetros que se tuvieron en cuenta para definir la calidad metodológica, se encuentran resumidos en las Tablas 4 y 5.

En los ensayos clínicos controlados, en relación al sesgo de selección, se encontró que 40 estudios (100%) tenían el tema claramente definido; 32 (80%) fueron realizados de forma aleatoria y solo 19 estudios (47,5%) reportaron similitud entre los grupos control. Con relación al sesgo de realización se encontró que en 34 estudios (85%) el grupo control recibió el mismo tratamiento de quien recibió la vacuna (mismo calendario de vacunación o misma vía de aplicación) y solo 19 estudios (47.5%) son doble ciego. En cuanto a la suspensión del ensayo solo el 2,5% (1) de los 40 ensayos clínicos controlados fue suspendido. En relación a la precisión, se encontró que el número voluntarios incluidos en los ensayos clínicos fase I varía entre 10 y 148, en los ensayos clínicos fase II entre 35 y 4002 y en los ensayos clínicos fase III entre 250 y 10.275. Finalmente, en relación a los resultados, se encontró que los 40 estudios (100%) reportaron como principal medida de inmunogenicidad los GMT; 36 de ellos (90%) reportaron la seropositividad, solo 15 (37.5%) y 14 (35%) reportaron resultados del grupo control y resultados de medición inicial, respectivamente. Teniendo en cuenta estos parámetros se consideró que los ensayos clínicos controlados tienen una calidad metodológica moderada (Tabla 4).

Por otro lado, para evaluar la calidad de los ensayos clínicos no controlados solo se tuvo en cuenta los criterios de la guía de la OMS evaluando si el tema fue claramente enfocado, descripción de características demográficas y resultados reportados.

Con estos parámetros evaluados se considera que, la calidad metodológica de los ensayos clínicos no controlados no es muy buena, ya que con relación a las características de la población ninguno de los dos estudios las describe, el número de participantes es bajo; un estudio incluye 10 y el otro 20 voluntarios, de los resultados reportados para seropositividad 1 de los estudios la reporta (50%), para los GMT los dos estudios lo reportan (100%), y solo un estudio describe los resultados de línea de base (50%). Ninguna de estas dos vacunas evaluadas tuvo reacción adversa que justificara la suspensión del ensayo, y los autores de los estudios tampoco reportan abandonos de los voluntarios incluidos. Finalmente se encontró que ambos estudios tienen el tema claramente definido (Tabla 5).

3.3. Seguridad

La seguridad puede ser reportada de acuerdo a la presencia de síntomas locales o sistémicos. Sin embargo, los estudios primarios no presentan homogeneidad en los parámetros reportados, es por esta razón que los porcentajes que presentamos corresponden a la frecuencia con que un síntoma es reportado (los estudios reportan más de un síntoma).

En los 42 estudios los síntomas locales más reportados son: eritema en 26 estudios (61,9%), dolor en 19 estudios (45,2%) y sensibilidad en 18 estudios (42,9%). Otros síntomas locales son reportados con menor frecuencia, entre los que se encuentran: induración en 9 estudios (21,4%), prurito en 3 estudios (7.1%), hinchazón en 3 estudios (7.1%) y calor local en uno de los estudios (2.4%) (Figura 3).

Por otro lado, los síntomas sistémicos con mayor frecuencia reportados son: fiebre en 35 estudios (83.3%), dolor de cabeza en 31 estudios (73.8%), mialgia en 26 estudios (61.9%), rash en 24 estudios (57.1%), malestar general en 20 estudios (47.65), leucopenia /neutropenia en 19 estudios (45,2%) y aumento de alanina aminotransferasa en 19 estudios (45.2%). Otros eventos como linfadenopatías, altralgia, malestar astenia, conjuntivitis, petequias, hemorragias, hepatomegalia, esplenomegalia, aumento de creatina fosfoquinasa, aumento de la creatinina, disminución de la hemoglobina, dolor abdominal, diarrea, anorexia, faringitis y muerte son menos reportadas (Figura 4).

Las deserciones por efectos adversos también es incluido como un parámetro de seguridad en el grupo de estudios que probaron formulación monovalente para DENV-1, DENV-2, DENV-4. En ese caso, no se encontraron deserciones o deserciones asociadas a efectos adversos en los estudios incluidos. Para el subgrupo de vacunas de otras formulaciones, se encontró que de los 5 estudios incluidos solo uno (23), reportan deserción de tres voluntarios por presentar reacciones adversas idiosincrásicas. En el grupo de vacunas tetravalentes encontramos diversos estudios que informan si tuvieron deserciones por razones como incumplimiento del protocolo, cambio de área o residencia, pérdida de contacto en el seguimiento y eventos adversos. La forma de presentar esta información lo hacen en forma narrativa o en diagrama de flujo en el cual se muestra la cantidad de voluntarios ingresados al estudio, los que desertan y finalmente cuántos continúan, esta es una forma clara para el lector.

La seguridad en términos de Riesgo Relativo (RR) no se realizó debido a la heterogeneidad presentada entre los subgrupos, en este sentido algunos estudios no emplearon como control placebo, si no otra formulación u otra dosis, así: para el grupo de DENV-1 solo es posible realizarla para dos estudios (24, 25), debido a que los otros no tienen un grupo al cual solo se les haya aplicado placebo; estos comparan con grupos de diferentes dosis o datos históricos (ver tabla 7).

Para DENV-2: 3 de 6 estudios emplearon placebo, solo dos reportan el resultado del placebo. Para DENV-4: 3 de 4 estudios emplean como control placebo. Para las otras formulaciones 2 estudios usan placebo como control, un estudio usa YF como control, otro usa control pero no reporta los datos del grupo placebo y el otro no controla con placebo. Para el grupo de vacunas tetravalentes se puede observar que los 8 estudios de Sanofi Pasteur tienen grupo vacunado y control como se ha reportado anteriormente por Da Costa 20014; los otros evalúan diferentes formulaciones de la vacuna o son de dos y tres dosis. Del grupo GlaxoSmithKline 5 emplean control y un estudio emplea diferentes formulaciones de comparación. La vacuna de Aventis Pasteur presenta un grupo placebo, pero la vacuna de National Institute of Allergy and Infectious Diseases y el grupo Takeda evalúan diferentes formulaciones o concentraciones por lo que no hay un grupo de voluntarios no expuestos. Por estas razones, en este estudio solo sería viable realizar un cálculo de RR en estudios individuales, pero dicho cálculo no tendría sentido en el contexto de esta revisión.

3.4. Inmunogenicidad

Diferentes metodologías son empleadas para medir la respuesta inmune a las vacunas para dengue. (Cada estudio puede utilizar una o varias de estas metodologías). En ese sentido la determinación de anticuerpos neutralizantes ya sea por ensayo de reducción de placa (PRNT 50 ó 60) o por micro neutralización es usada en 20 (52.4%) de los 42 estudios; el método de Hemaglutinación es empleado en 4 estudios (9.5%); el método de ELISA para IgG es utilizada en 5 estudios (11.9%) y para IgM en 7 estudios (16.7%). Otras metodologías como la medición de citoquinas entre ellas Interferón gamma, la respuesta de células B, la producción de anticuerpos heterólogos y la respuesta de células T son utilizadas por 5 estudios (11,9%).

Independientemente de la metodología empleada, la inmunogenicidad es medida por medio de la presencia de anticuerpos neutralizantes reportada como GMT y seropositividad, seroprevalencia, tasa de seropositividad o seroconversión.

Además, la seropositividad puede ser definida por los estudios de diferentes formas entre las que se encontraron: GMT>10 en 31 o 60 días post-vacunación mediante la fórmula (número de personas que se convirtieron tras la vacunación, sobre el total de voluntarios vacunados), también puede ser definida como el incremento de GMT en 4 veces al día 42 en comparación con los valores pre-vacunación y finalmente pueden definirla como un valor de PRNT60 \geq 40.

3.4.1. Vacunas tetravalentes

Como se mencionó anteriormente, 23 (54.8%) de los 42 estudios incluidos evaluaron formulaciones tetravalentes y de ellos 14 (60,9%) fueron realizados por la casa farmacéutica Sanofi Pasteur, 6 (26,1%) por la casa GlaxoSmithKline, 1 (4.33%) por Aventis Pasteur, 1 (4.3%) por NIAID y 1 (4.3%) por la empresa Inviragen–Takeda.

La vacuna recombinante CYD-TDV, fue probada en 13 estudios de la casa farmacéutica Sanofi Pasteur. La CYD-TDV usa la cepa vacunal (17D) del Virus de la Fiebre Amarilla (YFV) reemplazando las regiones que codifican para la proteína E y preM del YFV por las mismas regiones de cada serotipo del DENV. De estos 13 estudios, 10 (76,9%) evalúan 3 dosis, 2 (15,4%) evalúan dos y tres dosis y 1 (7.7%) evalúan solo 1 dosis. De los 10 estudios que evalúan tres dosis, 8 (80%) comparten similitud en su metodología, siendo realizados en regiones endémicas de Asia y sur América. En relación a la casa farmacéutica GlaxoSmithKline, las vacunas que ha desarrollado son vivas atenuadas por pasaje celular en PDK-FRh para ser administradas en dos dosis. De los estudios de

esta casa, 2 (33.3%) fueron conducidos en niños y los 4 restantes (66.7%) en adultos, tanto de zonas endémicas como no endémicas. Por otro lado, en el único estudio de la empresa Inviragen-Takeda evalúan una vacuna viva recombinante que se diferencia de CYD-TDV en que la base es una cepa atenuada del DENV-2, denominada DENVax 2. En esta cepa vacunal se sustituyen los genes que codifican para prM y E del serotipo 2, los cuales son remplazados por los de cada uno de los cuatro serotipos restantes (DENV-1, DENV-3 y DENV-4). Esta vacuna induce después de la segunda dosis un 62% de seroconversión entre los vacunados a los cuatro serotipos y de 96% de seroconversión a tres o más serotipos. Finalmente, dos estudios realizados por Aventis Pasteur (uno de ellos ya perteneciente a Sanofi-Adventis Pasteur) evaluaron una vacuna atenuada por pasaje serial en PDK/FRh. Uno de estos estudios fue suspendido debido a que los voluntarios desarrollaron enfermedad y viremia por DENV-3. El otro estudio no fue suspendido aunque los síntomas presentados fueron moderados y la viremia que se presentó fue principalmente por DENV-3 (26). El resumen de las características de seguridad e inmunogenicidad de todas las vacunas tetravalentes se observa en la Tabla 6.

Con el fin de facilitar la observación de las diferencias entre la cantidad de voluntarios incluidos en cada estudio y de los títulos de anticuerpos neutralizantes alcanzados por cada vacuna se presentan los valores de GMT (para cada uno de los serotipos virales) obtenidos en cada estudio con su respectivo intervalo de confianza (Figura 5). La gráfica para DENV-1 muestra que los resultados de GMT son más homogéneos entre los estudios, los títulos alcanzados por las vacunas son menores a 400. DENV-1 es el serotipo que más bajos GMT tiende a producir, a excepción de un estudio de GlaxoSmithKline quien obtuvo una media para GMT de 1148 (787,5; 1673,5) para este serotipo, pero con un bajo número de voluntarios. Para DENV-2 amplios intervalos de confianza son observados entre los estudios mostrando que para este serotipo la respuesta entre los voluntarios es heterogénea en el cual se alcanzan valores de hasta 800 GMT, para este serotipo en el mismo estudio de GlaxoSmithKline el GMT alcanza un valor medio de 1236,3 (927,93:1647,0). Para DENV-3 la respuesta a vacunas por GMT es muy diversa, algunos estudios presentan intervalos de confianza amplios, otro más estrecho independiente del número de voluntarios, la respuesta a este serotipo es muy variable, aunque los títulos de GMT alcanzados no superan el valor de 900. Para DENV-4 la respuesta también es más homogénea, los títulos alcanzados en los estudios no superan los 850 GMT, además, los intervalos son más estrechos para estudios con más voluntarios (Figura 5).

El comportamiento de los estudios en relación con las dos principales medidas de inmunogenicidad (figura 6) mostró que la mayoría de estudios reportan seropositividad (seroprevalencia, tasa de seropositividad o seroconversión) mayor al 80%. Y en relación al GMT los valores alcanzados por la mayoría de vacunas son menores a 800.

3.4.2. Vacunas monovalentes

14 estudios (33.3%) evaluaron formulaciones monovalentes, 2 (4.8%) evaluaron formulación monovalente de tres o cuatro serotipos en combinación con tetravalente y 3 (7,1%) evaluaron varias formulaciones en monovalentes.

3.4.2.1. Monovalente para DENV-1

De los 14 (33.3%) estudios que evaluaron formulación monovalente, 4(28,6%) evaluaron vacunas para DENV-1. Todos ellos fueron estudios de fase I, realizados en población adulta y sin financiación por casas farmacéuticas. De estas vacunas una es una vacuna viva obtenida por pasaje serial, dos

vacunas obtenidas por delección de 30 nucleótidos y una es vacuna de DNA. En todos estos estudios los autores reportan seguridad aceptable pero en inmunogenicidad la vacuna de DNA solo alcanzó una seropositividad máxima del 47%, en comparación con las otras vacunas que alcanzaron una seropositividad de 40-100% (27, 28), 0- 47%, 95% (24) y 84-100% (29) Las características de seguridad e inmunogenicidad de las vacunas monovalentes para DENV-1 se presentan en la Tabla 7.

3.4.2.2. Monovalente para DENV-2

6 (42,9%) estudios evaluaron vacunas para DENV-2. Todos fueron conducidos en población adulta y se encontraban en fase I de investigación. De estos 6 estudios, 4 (66,7%) fueron realizados con vacunas vivas obtenidas por pasaje serial (uno no especifica método de atenuación) y fueron realizados en individuos inmunes a YFV (Fiebre Amarilla) o EJ (Encefalitis Japonesa). La inmunidad previa por estos serotipos no aumenta las reacciones adversas de los voluntarios vacunados y por el contrario favorece el desarrollo de anticuerpos neutralizantes, encontrándose diferencias en los GMT de 1:86 en inmunes a YFV y de 1:24 en sujetos no inmunes. Sin embargo estos anticuerpos disminuyen a los 6 meses (30). De igual modo en otro estudio realizado (31), los sujetos inmunes a YFV alcanzaron GMT de 235 y los no inmunes de 49, para esta vacuna los anticuerpos neutralizantes de los individuos inmunes persisten hasta por tres años. Por otro lado, en otro estudio con sujetos inmunes a JEV se alcanza un rango de GMT de 400- 1200, estos anticuerpos neutralizantes tienden a disminuir al año (32).

Otra vacuna, monovalente para DENV-2 incluye dos tecnologías de atenuación inicialmente presenta quimerización con DENV-4 y en una segunda instancia se realiza delección de 30 nucleótidos (rDEN4Delta30). En relación a los resultados de inmunogenicidad, esta vacuna presenta seroconversión del 100% con GMT de 147 (con un intervalo de confianza de 111-1043), sin embargo los títulos de anticuerpos neutralizantes que alcanzan disminuyen a los 180 días post vacunación (33). A diferencia de estas vacunas; la vacuna quimérica desarrollada por Sanofi Pasteur muestra una seroconversión a anticuerpos heterólogos del 100% en sujetos con inmunidad previa a YF y una persistencia de estos anticuerpos hasta por (34)un año (35). Las características de seguridad e inmunogenicidad de las vacunas monovalentes para DENV-2 se observan en la Tabla 8.

3.4.2.3. Monovalente para DENV-4

De los 14 estudios que evaluaron formulación monovalente, 4 (28.6%) evaluaron vacunas para DENV-4, ninguno es financiado por casa farmacéutica y todos prueban una vacuna obtenida por delección de 30 nucleótidos (rDEN4D30). En un estudio se muestra que la vacuna de DENV-4 que alcanzó títulos de GMT de 580, pierde estos los títulos de anticuerpos neutralizantes alcanzados para el día 42 (GMT de 407 dato no mostrado) (36), y los otros tres estudios restantes son diferentes esfuerzos por tratar de disminuir la los efectos adversos que presentan mediante atenuación, este objetivo es logrado al evitar la presencia del Rash y la elevación de ALT, sin disminuir la seropositividad que alcanza valores del 100% (34, 37, 38). El resumen de las características de seguridad e inmunogenicidad de las vacunas monovalentes para DENV-4 se observan la Tabla 9.

3.4.2.4. Otras formulaciones

Tres (7.1%) de los estudios prueban varias formulaciones monovalentes (23, 29, 39) y dos (4,8%) prueban formulación monovalente de cada serotipo, los cuales son usados en una mezcla para preparar la formulación tetravalente (40, 41). Todos estos estudios son conducidos en población

adulta y solo dos son financiadas por casas farmacéuticas.

Se ha reportado que la formulación tetravalente presenta un comportamiento similar a las vacunas en formulación monovalente. Por ejemplo, el índice de reactogenicidad de la vacuna tetravalente post- una dosis (IR: 9) es similar a la de DENV-1 (IR: 10) (40). Sin embargo otro estudio (41) reportó que la vacuna tetravalente presentó mayor reacción adversa que las formulaciones monovalentes.

Otros estudios prueban dos o más formulaciones monovalentes, que incluyen monovalente para DENV-3. Entre estos encontramos un estudio (23), en el que se evalúan vacunas vivas obtenidas por pasaje serial para DENV-1, DENV-2 y DENV-3. Para DENV-3 la reacción adversa presentada es aceptable y alcanza una seropositividad del 90%. Otro estudio (39) evalúa vacunas monovalentes para DENV-1, DENV-2 y DENV-3, esta vacuna es obtenida por delección de 30 nucleótidos. En dicho estudio DENV-3 muestra seropositividad del 90% y títulos de GMT de 119 los cuales son superiores al encontrado en DENV-2 que alcanza una seroconversión de 53% con unos GMT de 19. El resumen de las características de seguridad e inmunogenicidad de estos otros estudios es observado en la Tabla 10.

4. DISCUSIÓN

Los estudios de esta revisión, se hicieron todos con miras a identificar una vacuna con buenos perfiles de seguridad e inmunogenicidad y que pueda ser licenciada a corto plazo. Sin embargo, las grandes variaciones entre los ensayos clínicos, los diferentes tipos de formulación y de vacuna, evidencian la necesidad de explorar y analizar con evidencia rigurosa los estudios que se han realizado para identificar la razón por la que se presentan tantas diferencias. Otra razón importante que lleva a hacer esta revisión es confirmar si la vacuna CYD-TDV que ha sido destacada como el candidato más viable (por sus avances en fase de desarrollo, inmunogenicidad y seguridad), es la vacuna más pertinente y si presenta diferencia con los otros candidatos que han evaluado. En este sentido esta revisión sistemática puede dar pautas para rediseñar los ensayos clínicos y las formas de reporte de resultados, lo que permitirá obtener resultados transparentes y comparables para obtener la mejor vacuna.

En esta revisión sistemática los ítems de la lista de chequeo Prisma 2009 fueron verificados con el fin de garantizar el cumplimiento de los parámetros sugeridos. Además, la exhaustividad de la búsqueda se garantizó, pues se incluyeron una gran variedad de términos de referencia, sin incluir restricción en la fecha de publicación o en el idioma. Adicionalmente se tuvieron en cuenta tanto ensayos clínicos controlados como no controlados, permitiendo así obtener gran información para describir las diferencias en los diseños que son una fuente importante de heterogeneidad y que no hace posible la comparación entre estudios. Además, esta rigurosidad también permitió obtener la información de las diferencias en los resultados de los ensayos clínicos que han sido publicados hasta la fecha. A pesar de que recientemente se publicó que los primeros estudios para el desarrollo de una vacuna para dengue datan de 1920 (22), los primeros ensayos clínicos reportados, incluidos en esta revisión sistemática, son del año 1983 (31). Esta discordancia puede deberse a las diferentes fuentes de información consultada debido a que solo se incluyeron artículos de revista indexadas.

Los 42 estudios que se incluyeron, fueron evaluados en relación a la calidad metodológica según las recomendaciones del grupo Cochrane a través de formularios. En ese sentido, los ensayos clínicos

controlados fueron evaluados con un formulario diseñado que tiene aportes de las listas de chequeo CASP y NICE mientras que los estudios clínicos no controlados fueron evaluados con un formulario basado en las guías de la OMS y las guías de vacunación para dengue de la OMS. De acuerdo al análisis realizado, se concluyó que la calidad metodológica de los ensayos clínicos controlados es moderada, ya que a pesar de que, en relación al sesgo de validez, el 100% de los estudios expusieron claramente el tema, la aleatorización fue realizada solo por el 80% y este parámetro es un criterio considerado por algunos autores como pilar fundamental para darle credibilidad a un estudio (42). Por otro lado, para el sesgo de realización, el doble cegamiento es un criterio de resultados confiables y debe ser mantenido hasta la fase de análisis de resultados (43), sin embargo ninguno de los estudios que encontramos lo aclaran y el solo hecho de mencionar que fueron doble ciego nos permitió considerarlo de buena calidad, pero solo el 47,5% de los estudios fueron realizados así. Otro parámetro que evaluamos era si los grupos de los estudios recibían el mismo tratamiento, para este encontramos que fue igual en el 85% de los ensayos clínicos controlados. De igual forma pasa con el parámetro de los resultados; reporte de resultados claros, de ambos grupos y de las mediciones iniciales garantizan que no hay ocultamiento de la información, esto es un criterio de buena calidad. Con el fin de no alterar la calidad de la revisión sistemática, los ensayos clínicos incluidos deberían tener una calidad alta (44), sin embargo al hacer la descripción de la calidad de los ensayos clínicos controlados publicados, se encontró que los estudios tienen calidad metodológica moderada (tabla 4), debido a que no cumplen en un 100% con todos los requisitos evaluados, esta condición hace que los resultados sean tomados con precaución, debido a que estos estudios pueden presentar sesgos y por tanto afectar los resultados llevando a recomendaciones erradas con respecto a una vacuna. Es por esta razón por lo que los resultados aquí presentados podrían tomarse como una pauta para mejorar los futuros ensayos con vacunas.

Por otro lado, los ensayos clínicos no controlados fueron calificados como de baja calidad, basados en que falta la descripción de características demográficas de la población y en que la presentación de los resultados es confusa, lo que es considerado como un criterio de mala calidad ya que puede generar en el lector la sensación de ocultamiento de la información. Adicionalmente, al no describir las características de la población no se pueden correlacionar los resultados con características propias de la población como es el caso de la resistencia de algunas razas al desarrollo de dengue (37). Además, la pobre descripción impide conocer el tipo de población a las cuales podrían extrapolarse los resultados o los contextos en los que su aplicación sería pertinente.

En relación al tipo de formulación, la OMS publicó en el 2008 la guía de vacunación para dengue (21), la cual sugiere priorizar el desarrollo de vacunas tetravalentes para disminuir el riesgo de formación de anticuerpos heterólogos en los pacientes vacunados, evitando así el fenómeno de potenciación dependiente de anticuerpos. Sin embargo, un gran porcentaje de estudios (45,2%) evaluó formulaciones monovalentes. Por otro lado, los estudios donde se realizaron ensayos clínicos con formulaciones monovalentes y tetravalentes derivadas de las monovalentes muestran un perfil de seguridad e inmunogenicidad diferente en cada formulación. Esto indica que las vacunas monovalentes evaluadas, si van a ser empleadas en formulación tetravalente, como sugiere la OMS deberán ser probadas nuevamente (40, 41). En ese sentido cabe preguntarse ¿Hasta qué fase de evaluación clínica debe ser probada una vacuna que no va a tener posibilidades reales de licenciarse? y ¿Porque exponer a diferentes personas con formulaciones monovalentes a un fenómeno de potenciación, si se conoce que la respuesta inmune no es extrapolable en estudios con formulaciones monovalentes y tetravalentes?

Con respecto a la edad de los voluntarios, esta se incluyó como un factor importante para el análisis. La inclusión de niños o población infantil es un requerimiento debido a que esta es una de las poblaciones objetivo de vacunación por el impacto de la enfermedad en ellos, sin embargo hay que considerar que ética e inmunológicamente son considerados población vulnerable, en el ámbito ético los niños no comprenden totalmente el concepto de los riesgos, beneficios y responsabilidades de la participación en los ensayos, razón por la cual sus padres deben aprobar el consentimiento, sin embargo se debe aclarar que estos estudios no aporta ningún beneficio al menor y la práctica solo conlleva a obtener resultados del conocimiento de un biológico como posible candidato a vacuna. En relación a los aspectos de inmunogenicidad, los niños y los infantes pueden tener un riesgo más alto de efectos secundarios que los adultos, debido a que sus órganos están en crecimiento y al desarrollo funcional del cuerpo en los primeros años de vida (45), además por condiciones de peso y tamaño presentan mayores niveles de toxicidad. Las anteriores condiciones se suman a que en la guía de vacunación para dengue se recomienda claramente que los voluntarios de los ensayos iniciales sean adultos, para que posteriormente la vacuna pueda ser evaluada en jóvenes y finalmente en niños (21); sin embargo solo el 71.4% de los estudios fue realizado en adultos y el resto en niños e infantes.

En relación a las características de seguridad ninguna vacuna reporta la aparición de eventos serios, y todos los estudios siguen las recomendaciones de la OMS al discriminar la seguridad por síntomas locales y sistémicos (21). Los síntomas locales más comunes fueron eritema, dolor, sensibilidad e induración y los sistémicos más comunes incluyeron fiebre, rash, dolor de cabeza, mialgia, leucopenia y elevación de la ALT, datos que por ser los más comunes reportados en las vacunas, deberían tenerse en cuenta como primera línea de evaluación en las tarjetas de seguridad y podrían ser utilizados para el cálculo del score, además debe tenerse presente la importancia del reporte de número de individuos que presentaron el síntoma tanto en el grupo de vacunados como en el control, y en caso tal de que no se presentara también informarlo. La importancia de conocer cuáles son las reacciones adversas tanto locales como sistémicas de una vacuna, radica en primer lugar en conocer la seguridad del fármaco; que en la reacción local puede genera molestias en el sitio de aplicación, pero que en la reacción sistémica puede hasta comprometer la vida. Además, identificarlas también permite que en futuras aplicaciones, se pueda detectar e identificar los eventos adversos inesperados, que por lo general no ocurrirían con la vacunación. El seguimiento de los eventos adversos por lo general informan que fue de 21 días, tiempo que se adapta a las recomendaciones de la OMS (21). Sin embargo, en los estudios fase II se debería prolongar este seguimiento de eventos adversos serios hasta por seis meses igual que lo hacen para inmunogenicidad. Esta recomendación también es dada por la OMS para evaluar seguridad a largo plazo.

Con relación a la inmunogenicidad de las vacunas (definida como la capacidad que tiene el biológico de inducir una respuesta inmunitaria dependiente de linfocitos B y T), esta es importante para comparar formulaciones y establecer calendario de vacunación, además podría asociarse como una medida inicial que se correlaciona con la eficacia de la vacuna (46). Específicamente en los ensayos de vacunas para dengue la medición de GMT es empleada como un marcador indirecto de protección, en los cuales la medición inmunológica se asocia con la posible protección brindada por la vacuna dependiendo de la robusta respuesta del sistema inmunitario frente al biológico (21, 42). Sin embargo, esta medida no es necesariamente un predictor de inmunidad protectora, ya que se ha reportado que en algunos casos a pesar de que se encontraron valores altos de GMT no hubo protección frente a DENV-2 como se ha reportado (47). Los valores de GMT son una correlación

inicial de posible protección, razón por la cual son más empleados los ensayos clínicos. Es de resaltar que los ensayos de inmunidad celular pueden brindar información sobre memoria inmunológica y duración de la protección.

Por otro lado, los estudios utilizan una o varias metodologías para la detección de anticuerpos neutralizantes. De estas metodologías, la única lo suficientemente sensible y específica como para discriminar la respuesta inmune para cada serotipo, es el ensayo de neutralización, el cual es el único método aceptado por la OMS y reconocido como Gold Standard (48). Todos los ensayos clínicos que incluimos en este estudio emplean PRNT (ya sea PRNT50 o PRNT60). En cuanto a su reporte, los resultados de los GMT son publicados de forma narrativa, en tablas o en gráficos cuyas escalas en ocasiones son logarítmicas y difíciles de interpretar (tanto la media como su intervalo), además pueden informar la media geométrica para el grupo en general o reportar el resultado del ensayo de placa para cada individuo, el reporte de GMT por voluntario no permite tener un resultado general de inmunogenicidad de la vacuna por lo que no se puede comparar este parámetro con otros ensayos, además de lo expuesto, los datos de títulos de anticuerpos de los grupos control en muchas ocasiones no son reportados, esto dificulta el análisis de datos .

Para ensayos de vacunación para dengue el PRNT50 proporciona una sensibilidad y especificidad adecuada, siendo la medición más recomendada (48), mientras que mediciones de PRNT80 o PRNT90 son utilizados en estudios epidemiológicos y de diagnóstico, los cuales tienen como objetivo evaluar la reacción cruzada entre Flavivirus en regiones donde hay circulación de varios de ellos y en donde el dengue es endémico (49). Teniendo en cuenta estos argumentos, en los estudios de vacunación la medición de efectividad para vacunas debería basarse solamente en mediciones de PRNT50, lo que permitiría además poder hacer una comparación entre los estudios.

Los resultados de inmunogenicidad y seguridad de las vacunas con formulación tetravalente, nos permitieron identificar dos grandes grupos: el primero incluye los estudios realizados por la casa Sanofi Pasteur y el segundo por la casa farmacéutica GlaxoSmithKline. En cuanto a los 14 estudios realizados por la casa Sanofi Pasteur, encontramos que 5 de estos a pesar de que probaron la vacuna recombinante CDY, presentan diferencias en el tratamiento del grupo control o en el calendario de vacunación lo que hace imposible su comparación (50-54). Solo 8 artículos reportados entre los años 2012 al 2014 presentan similitud en su metodología (47, 55-61) lo que hace posible su comparación. De estos estudios, 7 fueron incluidos en el meta análisis realizado por da Costa et al. en el año 2014, en este estudio los resultados de seguridad, son acordes con nuestros resultados (42 estudios), concordamos en que los síntomas locales relacionados a la vacunación más frecuente son dolor y eritema. De igual forma que los sistémicos más frecuentes incluyen fiebre, dolor de cabeza y mialgia. En relación a la inmunogenicidad medida como GMT, el meta-análisis de Da costa publica que la respuesta a la vacunación en términos de peso de diferencia de medias para DENV-1 es 59.7, 95% CI 57-61; para DENV-2 99, 95% IC 95-102, para DENV-3 138, 95% CI 133-142; para DENV-4 123, 95% IC 119-126, en conclusión los resultados de inmunogenicidad muestran que DENV-3, DENV-4, DENV-2 y DENV-1 tienen mejor respuesta en orden descendente, lo que indica que existe heterogeneidad de la respuesta inmunogénica medida en términos de GMT, conclusión con la que de igual forma concordamos (62). Sin embargo, en este estudio discuten que la heterogeneidad en los resultados se debe a las diferencias del estatus inmune de los voluntarios incluidos, sin embargo nosotros planteamos la posibilidad de la existencia de dos grupos de población: respondedores / no respondedores debido a que al analizar más estudios que fueron realizados en zonas endémicas o no endémicas, presentan esta variación, de igual forma en los

estudios en los cuales evalúan el estatus inmune previo al ensayo de vacunas.

La publicación de este meta-análisis apoya el resultado de la gran heterogeneidad entre los ensayos clínicos, ya que de 43 estudios que nosotros hayamos solo de 7 se pudo hacer el meta-análisis, sin embargo, nosotros encontramos que se podría realizar de 8 estudios, y que el octavo no fue incluido probablemente porque no estaba entre la fecha de búsqueda que ellos tenían establecida. Sin embargo, no era nuestra intención actualizar este meta-análisis sino establecer que se está reportando en seguridad e inmunogenicidad, como se está reportando, como se están diseñado los estudios clínicos de vacunas para dengue para definir cuáles son las fuentes de heterogeneidad de los ensayos clínicos que dificulta el desarrollo del meta-análisis. La importancia de homogenizar los resultados para la realización de meta-análisis, radica en que esto permitiría comparar los ensayos clínicos de vacunas y arrojar resultados con una potencia estadística apropiada (62). Los 8 ensayos clínicos que se mencionaron incluidos los 7 del meta-análisis, son realizados en regiones endémicas de Asia y sur América, los grupos controles reciben o solución salina o vacuna de la hepatitis A, influenza, rabia, polisacárido de meningococo A+C, polisacárido de *Pneumococo* (PPS), la triple bacteriana (tétano/difteria/vacuna a celular de Pertusis), o el polisacárido Vi tifoideo. Esto nos permite evidenciar que, aunque los estudios pueden incluirse en un meta-análisis, también presentan diferencias entre ellos a pesar que son dirigidos por la misma casa farmacéutica.

Además de lo anterior, nosotros diferimos de los resultados de eficacia del meta-análisis. De los 7 estudios incluidos, nosotros encontramos que solo uno reporta eficacia del 30,2% (95%IC 13,4 a 56,6) aun que presenten altos GMT (47), y el otro estudio que la reporta no fue incluido en el meta-análisis (61). En este último estudio muestra una eficacia de 56,5%.

En el otro grupo de vacunas tetravalentes se incluyeron 6 estudios realizados por la casa farmacéutica GlaxoSmithKline (63-65). De estos 5 son similares en su diseño y se caracterizan por que utilizan la misma cepa y el calendario de vacunación, que consiste de dos dosis con un intervalo de 6 meses entre cada aplicación. Sin embargo, aunque presenta similitudes que permitirían hacer meta-análisis de estos cinco, solo tres tenían como grupo control placebo u otra vacuna licenciada y dos de estos no publicaron los resultados del grupo control para la inmunogenicidad, ni los autores suministraron la información después de contactarlos. Otro estudio (66) que prueba las mismas cepas vacúnales evalúa dos y tres dosis pero la segunda dosis es suministrada en el día 28 después de la primera dosis. Estas diferencias y la falta de datos suministrados hacen que la comparación entre estas vacunas no sea posible de realizar, hecho lamentable debido a que uno de esos estudios mostró el desarrollo de altos GMT para DENV-1 y DENV-2 en comparación con otros estudios desarrollados. De los dos estudios realizados por la casa farmacéutica Aventis Pasteur; un estudio fue suspendido (Adventis-Sanofi pasteur) debido a que los voluntarios desarrollaron enfermedad y viremia por DENV-3 y el otro estudio que empleo las mismas cepas vacunales, si completo el estudio. El estudio que fue suspendido, plantea que los efectos adversos pueden ser asociados por la edad de los voluntarios (adultos) o por falta de atenuación de la cepa; esta última hipótesis es más probable debido a que el segundo estudio también fue realizado en población adulta, sin embargo hay que tener en cuenta que en este estudio también se presentó efectos adversos moderados y viremia por DENV-3 (26). De igual forma al revisar los estudios realizados por la casa farmacéutica GlaxoSmithKline; se observa que utilizan vacuna viva atenuada, que difiere de los estudios anteriores en la cepa utilizada, estos estudios no reportan mayor reactogenicidad y podría estar asociado con el genotipo de la cepa seleccionada para el diseño del biológico. Otras vacunas

realizadas por Inviragen-Takeda (67) y por el National Institute of Allergy and Infectious Diseases (68) han demostrado seguridad e inmunogenicidad aceptables. Sin embargo, solo hay disponible un estudio en cada caso por lo que no es posible realizar estudios comparativos.

En cuanto a la seguridad de las vacunas monovalentes para DENV-1, se demuestra que la vacuna viva atenuada por pasaje serial (69), la de DNA (28) y las de delección de 30 nucleótidos en el 3' UTR (25, 70), tienen un perfil de seguridad aceptable. Adicionalmente, en cuanto a inmunogenicidad, las vacunas que emplean tecnología de atenuación a través de delección de 30 nucleótidos resultan ser muy eficientes después de una dosis y un refuerzo se hace innecesario (29). Con los resultados de GMT se evidencia que la vacuna de DNA es poco inmunogénica, sin embargo serían necesarios estudios de inmunidad celular para comprobar que la vacuna no produce memoria inmunológica debido a que la medida de GMT no es una medida que se correlacione necesariamente con eficacia vacunal (28).

Los estudios realizados para DENV-2 prueban vacunas quiméricas (33, 35) y vivas atenuadas por pasaje celular (30-32, 71). En estos estudios se observa que a pesar de la teoría de Potenciación Dependiente de Anticuerpos, la presencia de anticuerpos contra otros flavivirus como YFV o VEJ no exacerban los eventos adversos de la vacuna, sino que por el contrario se mejora la respuesta inmune de la vacuna para DENV. Este aumento de anticuerpos, asociados con la vacunación previa por otro Flavivirus, se relaciona con una respuesta anamnésica a algunos determinantes antigénicos similares o idénticos entre otros virus relacionados (72). Esto permite que en la última exposición se aumenten los anticuerpos IgG de reacción cruzada, anticuerpos IgM para dengue y anticuerpos IgM específicos del Flavivirus previo, en este caso de YFV. De forma alternativa, una explicación a este aumento se relaciona con una reacción cruzada que involucra células B de memoria que al ser estimuladas por YFV pueden aumentar la presentación de antígenos de DENV posterior a la vacunación. Sin embargo la persistencia de estos no es clara (30) y los sujetos que alcanzan altos títulos de anticuerpos disminuyen a los seis meses a si sean inmunes para YFV. En contraste con esos resultados, la vacuna atenuada por pasaje serial (PDK) (31) muestra que los individuos inmunes a YFV también presenta una mejora en el títulos de anticuerpos y que perduran hasta por tres años en comparación con los no inmunes que presentan una duración de 6 meses, favoreciendo la idea de que una inmunidad previa al YFV favorece la respuesta y persistencia de los anticuerpos vacunales. Así mismo, la inmunidad previa a otros flavivirus como JEV fue probada en una vacuna viva atenuada por pasaje serial en PDK y se demostró también un incremento en el desarrollo de anticuerpos y una persistencia de ellos hasta por un año (32).

Dos estudios de vacuna para DENV-2 prueban vacunas quiméricas, una quimera es diseñada con el YFV (chimerivax) (35) y el otro una cepa de DENV-4 que presenta delección de 30 nucleótidos (24). Ambos estudios muestran una alta respuesta de anticuerpos para ambos (GMT de 570-974,4 para chimerivax y 147 (11-1043) para la segunda), sin embargo estos anticuerpos para la vacuna quimérica de DENV-4 disminuyen a los 180 días y los anticuerpos producidos por la vacuna chimerivax persisten e inducen respuesta de anticuerpos heterólogos que persisten hasta por una año. Los resultados de estos estudios favorecen la idea que un flavivirus diferente a DENV mejora la respuesta de vacunas al dengue, pero aún no se confirma si también la persistencia de estos. Las vacunas monovalentes para DENV-4 prueban la atenuación con delección de 30 nucleótidos. Estas vacunas muestran un incremento del título de anticuerpos, sin embargo en un estudio estos títulos disminuyen para el día 42 (36), pero no se puede asegurar que los anticuerpos generados son de corta duración debido a que los otros tres estudios se limitan a disminuir las reacciones adversas

(Rash y elevación de ALT) y no reportan persistencia de los anticuerpos en el tiempo (34, 37, 38).

Las vacunas que se denominaron como otras formulaciones, demuestran que el perfil de seguridad e inmunogenicidad de una vacuna monovalente puede llegar a variar o a comportarse de forma similar que la formulación tetravalente (23, 40), debido a que al combinar las cuatro cepas, se puede presentar un fenómeno de interferencia viral. En este grupo también se incluyen dos vacunas obtenidas por delección de 30 nucleótido. Una de estas es la desarrollada por la casa farmacéutica Sanofi Pasteur (39), la cual genera interrogantes debido a que el estudio es publicado en el año 2013, fecha para la cual ya se venía probando la CYD-TDV de la cual han reportado buena seguridad e inmunogenicidad, en este punto surge la pregunta ¿por qué evaluar otra vacuna si la CYD-TDV ha presentado tan buenos resultados?

5. CONCLUSION

Con los resultados expuestos se muestra cuáles son las diferencias que presentan los estudios en cuanto a diseños y reportes. A pesar de la existencia de una guía de vacunación se encontraron estudios publicados después del 2008, que no se acogen a las recomendaciones de la OMS.

Unificar los datos de reporte y metodología es necesario. La evidencia presentada en este trabajo resalta la importancia de divulgar los resultados de los estudios de forma clara, transparente en la que se reporten los resultados de los controles y del grupo vacunado tanto previo a la vacunación, así como después de cada vacunación. Además, es importante hacer seguimiento de esta respuesta inmune en el tiempo ya que la persistencia de anticuerpos vacunales es un problema que han presentado estas vacunas.

Seguir las recomendaciones de la OMS y emplear parámetros de seguridad e inmunogenicidad con mayor frecuencia aquí identificados, facilitará que futuros estudios realizados en vacunas sean comparables y permitan con claridad evaluar cuál es el mejor candidato.

A pesar de los esfuerzos no se ha determinado un valor de GMT que se relacione con seropositividad, y los GMT como medida indirecta de eficacia es controversial. Más estudios de eficacia son necesarios para poder obtener resultados que permitan entender la respuesta inmune en vacunación a dengue.

Con la evidencia presentada se muestra que la inmunidad previa con otro flavivirus (YFV o JEV), no se relaciona con incremento de los efectos adversos, pero esta condición si se relaciona con mejora de la respuesta inmune (títulos de GMT mayores), sin embargo, la persistencia de los anticuerpos neutralizantes asociada a la inmunidad previa aún no se puede relacionar por diferencias entre los estudios.

A la fecha, la CYD-TDV ha alcanzado el mayor avance. Sin embargo, la eficacia de la vacuna es cuestionable, por lo que se requieren más estudios para comprobarla. Debido a esta discordancia entre eficacia y GMT, se recomienda evaluar con precaución los resultados de inmunogenicidad de los ensayos clínicos, debido que, aunque un estudio que presente bajos títulos de anticuerpos neutralizantes no implica que no sea eficaz, y posiblemente se requieran de otras medidas de inmunidad celular que si la correlacione.

Por los resultados encontrados, se recomienda la unificación de métodos y metodologías que permitan la comparación de estudios para la posterior realización de meta-análisis que permita aumentar la potencia. Debido a que se encontraron estudios que incluían desde diez participantes, se sugiere incrementar el número de voluntarios por estudio, esto permitirá que los estudios no presenten grandes diferencias en el peso aportado en el momento de realizar meta-análisis.

Un importante parámetro relacionado con el diseño del estudio es la región donde se realizan los ensayos clínicos, la OMS recomienda la realización en zonas endémicas, sin embargo el hecho de realizar los estudios en países endémicos no garantiza que la región sea endémica, este dato debe ser claramente informado y en caso que si sea endémico monitorear e informar el serotipo circulante (como lo sugiere la OMS) debido a que la protección que se está evaluando será contra el serotipo que circule en la temporada.

Lo que refiere a las características de la población, los niños y la población infantil deben ser incluidos en los ensayos clínicos, debido a que son una población objetivo, sin embargo, por las razones éticas e inmunológicas sugerimos que sean incluidos en ensayos clínicos fase III.

El estatus inmunológico es otra de las características de la población que debe ser tomada en cuenta, todos los estudios deberán incluir la descripción de exposición previa a YFV o JEV, debido a que la inmunidad previa puede influir en los resultados de inmunogenicidad.

Otra característica relacionada con el diseño del estudio es el tipo de formulación, nosotros consideramos que las vacunas con formulaciones monovalentes deben ser probadas solo en estudios preclínicos, debido a que el perfil de seguridad e inmunogenicidad de estas vacunas es diferente cuando son probadas como monovalentes a cuando son mezcladas en formulación tetravalente, forma que es recomendada por la OMS.

En cuanto al reporte, sugerimos que los resultados sean claros preferiblemente en tablas debido a que los gráficos pueden ser difíciles de interpretar y no se obtienen datos precisos. La claridad en los resultados y el reporte de mediciones de inmunogenicidad previas a la vacuna, así como los resultados de los grupos controles garantizan la transparencia de los resultados y descartan el ocultamiento de la información.

Para los reportes de seguridad, sugerimos que se deben continuar reportando parámetros de seguridad local y sistémica. Pero por la frecuencia de los síntomas reportados, los estudios deben incluir la evaluación y reporte de síntomas locales como: eritema, dolor, sensibilidad, induración, hinchazón, prurito y calor local. Y en síntomas sistémicos: fiebre, dolor de cabeza, mialgia, rash, malestar general, leucopenia o neutropenia y aumento de la ALT.

Como perspectivas de este trabajo, se considera que determinar nuevas mediciones diferentes a GMT que se relacionen con respuesta inmune en vacunación para dengue, mejoraría el análisis de los estudios y reduciría costos, esta medida solo se puede conseguir con estudios de eficacia o estudios in-vitro que permitan evaluar memoria a largo plazo.

La realización de estudios retrospectivos que incluyan voluntarios que hayan sido vacunados en previos estudios y que evalúe frecuencia y severidad con que se presentó la enfermedad en el periodo post vacunación hasta la fecha, permitirá evaluar la protección que induce la vacuna a largo

plazo en condiciones naturales. Estos estudios pueden ser más económicos y permiten entender la respuesta a la vacunación a largo plazo al igual que posibles efectos adversos a largo plazo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer a Natalia Fuentes Ramos y a Carlos Mario Arroyave bibliotecólogos de la biblioteca central de la universidad de Antioquia, quienes nos apoyaron en el proceso de búsqueda y en la obtención de artículos no disponibles.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lindenbach BD, Thiel H-j, Rice CM. Flaviviridae: The Viruses and Their Replication. Fields Virology. 5th Edition ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 2007.
2. Murphy BR, Whitehead SS. Immune response to dengue virus and prospects for a vaccine. Annual review of immunology. 2011;29:587-619.
3. Urcuqui-Inchima S, Patino C, Torres S, Haenni AL, Diaz FJ. Recent developments in understanding dengue virus replication. Advances in virus research. 2010;77:1-39.
4. Russell PK, Nisalak A. Dengue virus identification by the plaque reduction neutralization test. The Journal of Immunology. 1967;99(2):291-6.
5. Mustafa M, Rasotgi V, Jain S, Gupta V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. Medical Journal Armed Forces India. 2015;71(1):67-70.
6. Holmes EC, Burch SS. The causes and consequences of genetic variation in dengue virus. Trends in microbiology. 2000;8(2):74-7.
7. Balmaseda A, Hammond SN, Perez L, Tellez Y, Saborio SI, Mercado JC, et al. Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. The American journal of tropical medicine and hygiene. 2006;74(3):449-56.
8. OMS, TDR. dengue guias para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. Bolivia: OMS; 2009.
9. INS, OPS, OMS. guía para la atención clínica integral del paciente con dengue. Bogota: 2010.
10. McArthur MA, Sztein MB, Edelman R. Dengue vaccines: recent developments, ongoing challenges and current candidates. Expert review of vaccines. 2013;12(8):933-53.
11. Rodriguez-Roche R, Gould EA. Understanding the dengue viruses and progress towards their control. BioMed research international. 2013;2013:690835.
12. Back AT, Lundkvist A. Dengue viruses - an overview. Infection ecology & epidemiology. 2013;3.
13. WHO. Report of the Scientific Working Group meeting on Dengue. 2006.
14. Naud PS, Roteli-Martins CM, De Carvalho NS, Teixeira JC, de Borba PC, Sanchez N, et al. Sustained efficacy, immunogenicity, and safety of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine: final analysis of a long-term follow-up study up to 9.4 years post-vaccination. Human vaccines & immunotherapeutics. 2014;10(8):2147-62.
15. Yauch LE, Shresta S. Dengue virus vaccine development. Advances in virus research. 2014;88:315-72.
16. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Gherzi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. Systematic Reviews. 2015.
17. Urrútia G, Bonfill X. Declaración PRISMA: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. Medicina clínica. 2010;135:507-11.
18. Sandieson R. Pathfinding in the research forest: The pearl harvesting method for effective information retrieval. Education and Training in Developmental Disabilities. 2006:401-9.
19. Plotkin SA. Correlates of vaccine-induced immunity. Clinical infectious diseases. 2008;47(3):401-9.
20. (CASP) CASP. CASP CHECKLISTS 2013 [cited 2015]. Available from: <http://www.casp-uk.net/#!/casp-tools-checklists/c18f8>.
21. Edelman R, Hombach J. "Guidelines for the clinical evaluation of dengue vaccines in endemic areas": summary of a World Health Organization Technical Consultation. Vaccine. 2008;26(33):4113-9.
22. Julian P T Higgins DGA, Peter C Gøtzsche, Peter Jüni , David Moher , Andrew D Oxman, Jelena Savović , Kenneth F Schulz , Laura Weeks Jonathan A C Sterne , Cochrane Bias Methods Group, Cochrane Statistical Methods Group. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. BMJ. 2011.
23. Kanasa-Thasan N, Edelman R, Tacket CO, Wasserman SS, Vaughn DW, Coster TS, et al. Phase 1 studies of Walter Reed Army Institute of Research candidate attenuated dengue vaccines: selection of safe and immunogenic monovalent vaccines. The American journal of tropical medicine and hygiene. 2003;69(6 Suppl):17-23.
24. Durbin AP, McArthur JH, Marron JA, Blaney JE, Thumar B, Wanionek K, et al. rDEN2/4Δ30 (ME), a

live attenuated chimeric dengue serotype 2 vaccine, is safe and highly immunogenic in healthy dengue-naïve adults. *Human vaccines*. 2006;2(6):255-60.

25. Durbin AP WS, Shaffer D, Elwood D, Wanionek K, Thumar B, Blaney JE, Murphy BR, Schmidt AC. A single dose of the DENV-1 candidate vaccine rDEN1Δ30 is strongly immunogenic and induces resistance to a second dose in a randomized trial. *PLoS Negl Trop Dis* 2011;5(8).

26. Sabchareon A, Lang J, Chanthavanich P, Yoksan S, Forrat R, Attanath P, et al. Safety and immunogenicity of tetravalent live-attenuated dengue vaccines in Thai adult volunteers: role of serotype concentration, ratio, and multiple doses. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2002;66(3):264-72.

27. Edelman R, Tacket CO, Wasserman SS, Vaughn DW, Eckels KH, Dubois DR, et al. A Live Attenuated Dengue-L Vaccine Candidate (45AZ5) Passaged In Primary Dog Kidney Cell Culture Is Attenuated And Immunogenic For Humans. *Journal of Infectious Diseases*. 1994;170(6):1448-55.

28. Beckett CG, Tjaden J, Burgess T, Danko JR, Tamminga C, Simmons M, et al. Evaluation of a prototype dengue-1 DNA vaccine in a Phase 1 clinical trial. *Vaccine*. 2011;29(5):960-8.

29. Durbin AP, Schmidt A, Elwood D, Wanionek KA, Lovchik J, Thumar B, et al. Heterotypic dengue infection with live attenuated monotypic dengue virus vaccines: implications for vaccination of populations in areas where dengue is endemic. *Journal of Infectious Diseases*. 2011;203(3):327-34.

30. Bancroft WH SR, Eckels KH, Hoke CH Jr, Simms TE, Jesrani KD, Summers PL, Dubois DR, Tsoulos D, Russell PK. Dengue virus type 2 vaccine: reactogenicity and immunogenicity in soldiers. *J Infect Dis* 1984;149(6)::1005-10.

31. Scott RM EK, Bancroft WH, Summers PL, McCown JM, Anderson JH, Russell PK. Dengue 2 vaccine: dose response in volunteers in relation to yellow fever immune status. *J Infect Dis*. 1983;148(6):1055-60.

32. Bhamarapravati N, Yoksan S, Chayanitayothin T, Angsubphakorn S, Bunyaratvej A. Immunization with a live attenuated dengue-2-virus candidate vaccine (16681-PDK 53): clinical, immunological and biological responses in adult volunteers. *Bulletin of the World Health Organization*. 1987;65(2):189-95.

33. Durbin AP MJ, Marron JA, Blaney JE, Thumar B, Wanionek K, Murphy BR, Whitehead SS. rDEN2/4Delta30(ME), a live attenuated chimeric dengue serotype 2 vaccine is safe and highly immunogenic in healthy dengue-naïve adults. *Hum Vaccin* 2006;2(6):255-60.

34. Wright PF, Durbin AP, Whitehead SS, Iklizler MR, Henderson S, Blaney JE, et al. Phase 1 trial of the dengue virus type 4 vaccine candidate rDEN4{Delta}30-4995 in healthy adult volunteers. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2009;81(5):834-41.

35. Guirakhoo F KS, Morrison D, Forrat R, McCarthy K, Nichols R, Yoksan S, Duan X, Ermak TH, Kanesa-Thasan N, Bedford P, Lang J, Quentin-Millet MJ, Monath TP. Live attenuated chimeric yellow fever dengue type 2 (ChimeriVax-DEN2) vaccine: Phase I clinical trial for safety and immunogenicity: effect of yellow fever pre-immunity in induction of cross neutralizing antibody responses to all 4 dengue serotypes. *Hum Vaccin*. 2006;2(2):60-7.

36. Durbin AP, Karron RA, Sun W, Vaughn DW, Reynolds MJ, Perreault JR, et al. Attenuation and immunogenicity in humans of a live dengue virus type-4 vaccine candidate with a 30 nucleotide deletion in its 3'-untranslated region. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2001;65(5):405-13.

37. Durbin AP WS, McArthur J, Perreault JR, Blaney JE Jr, Thumar B, Murphy BR, Karron RA. rDEN4delta30, a live attenuated dengue virus type 4 vaccine candidate, is safe, immunogenic, and highly infectious in healthy adult volunteers. *J Infect Dis*. 2005;191(5):710-8.

38. McArthur JH, Durbin AP, Marron JA, Wanionek KA, Thumar B, Pierro DJ, et al. Phase I clinical evaluation of rDEN4Delta30-200,201: a live attenuated dengue 4 vaccine candidate designed for decreased hepatotoxicity. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2008;79(5):678-84.

39. Lindow JC, Durbin AP, Whitehead SS, Pierce KK, Carmolli MP, Kirkpatrick BD. Vaccination of volunteers with low-dose, live-attenuated, dengue viruses leads to serotype-specific immunologic and virologic profiles. *Vaccine*. 2013;31(33):3347-52.

40. Sun W, Edelman R, Kanesa-Thasan N, Eckels KH, Putnak JR, King AD, et al. Vaccination of human volunteers with monovalent and tetravalent live-attenuated dengue vaccine candidates. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2003;69(6 Suppl):24-31.

41. Kanesa-thesan N, Sun W, Kim-Ahn G, Van Albert S, Putnak JR, King A, et al. Safety and immunogenicity of attenuated dengue virus vaccines (Aventis Pasteur) in human volunteers. *Vaccine*. 2001;19(23-24):3179-88.
42. Cobos-Carbó A. Ensayos clínicos aleatorizados (CONSORT). *Medicina clinica*. 2005;125.
43. ROBERT FLETCHER LWAWWKH. EPIDEMIOLOGIA CLINICA: LIPPINCOTT WILLIAMS AND WILKINS. WOLTERS KLUWER HEALTH; 2008.
44. The Cochrane Collaboration. Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones 2011.
45. Organization WH. Correlates of vaccine-induced protection: methods and implications. 2013.
46. Plotkin SA. Vaccines: correlates of vaccine-induced immunity. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2008;47(3):401-9.
47. Sabchareon A, Wallace D, Sirivichayakul C, Limkittikul K, Chanthavanich P, Suvannadabba S, et al. Protective efficacy of the recombinant, live-attenuated, CYD tetravalent dengue vaccine in Thai schoolchildren: a randomised, controlled phase 2b trial. *Lancet*. 2012;380(9853):1559-67.
48. Timiryasova TM, Bonaparte MI, Luo P, Zedar R, Hu BT, Hildreth SW. Optimization and validation of a plaque reduction neutralization test for the detection of neutralizing antibodies to four serotypes of dengue virus used in support of dengue vaccine development. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2013;88(5):962-70.
49. Roehrig JT, Hombach J, Barrett AD. Guidelines for Plaque-Reduction Neutralization Testing of Human Antibodies to Dengue Viruses. *Viral immunology*. 2008;21(2):123-32.
50. Dayan GH, Thakur M, Boaz M, Johnson C. Safety and immunogenicity of three tetravalent dengue vaccine formulations in healthy adults in the USA. *Vaccine*. 2013;31(44):5047-54.
51. Poo J, Galan F, Forrat R, Zambrano B, Lang J, Dayan GH. Live-attenuated Tetravalent Dengue Vaccine in Dengue-naive Children, Adolescents, and Adults in Mexico City: Randomized Controlled Phase 1 Trial of Safety and Immunogenicity. *The Pediatric infectious disease journal*. 2010.
52. Capeding RZ, Luna IA, Bomasang E, Lupisan S, Lang J, Forrat R, et al. Live-attenuated, tetravalent dengue vaccine in children, adolescents and adults in a dengue endemic country: randomized controlled phase I trial in the Philippines. *Vaccine*. 2011;29(22):3863-72.
53. Morrison D LT, Billings CW, Forrat R, Yoksan S, Lang J. A novel tetravalent dengue vaccine is well tolerated and immunogenic against all 4 serotypes in flavivirus-naive adults. *J Infect Dis*. 2010;201(3):370-7
54. Qiao M, Shaw D, Forrat R, Wartel-Tram A, Lang J. Priming effect of dengue and yellow fever vaccination on the immunogenicity, infectivity, and safety of a tetravalent dengue vaccine in humans. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2011;85(4):724-31.
55. Leo YS, Wilder-Smith A, Archuleta S, Shek LP, Chong CY, Leong HN, et al. Immunogenicity and safety of recombinant tetravalent dengue vaccine (CYD-TDV) in individuals aged 2-45 y: Phase II randomized controlled trial in Singapore. *Human vaccines & immunotherapeutics*. 2012;8(9):1259-71.
56. Ngoc Huu Tran CQL, Thi Que Huong Vu, Remi Forrat, Jean Lang, Quoc Dat Vu, Alain Bouckenoghe, Tram Anh Wartel. Safety and Immunogenicity of Recombinant, Live Attenuated Tetravalent Dengue Vaccine (CYD- TDV) in Healthy Vietnamese Adults and Children. *Vaccines Vaccin*. 2012;3:162.
57. Lanata CF, Andrade T, Gil AI, Terrones C, Valladolid O, Zambrano B, et al. Immunogenicity and safety of tetravalent dengue vaccine in 2-11 year-olds previously vaccinated against yellow fever: randomized, controlled, phase II study in Piura, Peru. *Vaccine*. 2012;30(41):5935-41.
58. Dayan GH, Garbes P, Noriega F, Izoton de Sadovsky AD, Rodrigues PM, Giuberti C, et al. Immunogenicity and safety of a recombinant tetravalent dengue vaccine in children and adolescents ages 9-16 years in Brazil. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2013;89(6):1058-65.
59. Hss AS, Koh MT, Tan KK, Chan LG, Zhou L, Bouckenoghe A, et al. Safety and immunogenicity of a tetravalent dengue vaccine in healthy children aged 2-11 years in Malaysia: a randomized, placebo-controlled, Phase III study. *Vaccine*. 2013;31(49):5814-21.
60. Villar LA, Rivera-Medina DM, Arredondo-Garcia JL, Boaz M, Starr-Spires L, Thakur M, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant tetravalent dengue vaccine in 9-16 year olds: a randomized, controlled, phase II trial in Latin America. *The Pediatric infectious disease journal*. 2013;32(10):1102-9.

61. Capeding MR, Tran NH, Hadinegoro SR, Ismail HI, Chotpitayasunondh T, Chua MN, et al. Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia: a phase 3, randomised, observer-masked, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2014;384(9951):1358-65.
62. da Costa VG, Marques-Silva AC, Floriano VG, Moreli ML. Safety, immunogenicity and efficacy of a recombinant tetravalent dengue vaccine: A meta-analysis of randomized trials. *Vaccine*. 2014;32(39):4885-92.
63. Sun W, Cunningham D, Wasserman SS, Perry J, Putnak JR, Eckels KH, et al. Phase 2 clinical trial of three formulations of tetravalent live-attenuated dengue vaccine in flavivirus-naive adults. *Hum Vaccin*. 2009;5(1):33-40.
64. Watanaveeradej V, Gibbons RV, Simasathien S, Nisalak A, Jarman RG, Kerdpanich A, et al. Safety and immunogenicity of a rederived, live-attenuated dengue virus vaccine in healthy adults living in Thailand: a randomized trial. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2014;91(1):119-28.
65. Edelman R, Wasserman SS, Bodison SA, Putnak RJ, Eckels KH, Tang D, et al. Phase I trial of 16 formulations of a tetravalent live-attenuated dengue vaccine. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2003;69(6 Suppl):48-60.
66. Thomas SJ, Eckels KH, Carletti I, De La Barrera R, Dessy F, Fernandez S, et al. A phase II, randomized, safety and immunogenicity study of a re-derived, live-attenuated dengue virus vaccine in healthy adults. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2013;88(1):73-88.
67. Osorio JE, Velez ID, Thomson C, Lopez L, Jimenez A, Haller AA, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant live attenuated tetravalent dengue vaccine (DENVax) in flavivirus-naive healthy adults in Colombia: a randomised, placebo-controlled, phase 1 study. *The Lancet Infectious diseases*. 2014;14(9):830-8.
68. Durbin AP KB, Pierce KK, Elwood D, Larsson CJ, Lindow JC, Tibery C, Sabundayo BP, Shaffer D, Talaat KR, Hynes NA, Wanionek K, Carmolli MP, Luke CJ, Murphy BR, Subbarao K, Whitehead SS. A single dose of any of four different live attenuated tetravalent dengue vaccines is safe and immunogenic in flavivirus-naive adults: a randomized, double-blind clinical trial. *J Infect Dis*. 2013;207:957-65.
69. Edelman R TC, Wasserman SS, Vaughn DW, Eckels KH, Dubois DR, Summers PL, Hoke CH. A live attenuated dengue-1 vaccine candidate (45AZ5) passaged in primary dog kidney cell culture is attenuated and immunogenic for humans. *J Infect Dis*. 1994;170(6):1448-55
70. Anna P. Durbin JM, Jennifer A. Marron, Joseph E. Blaney, Jr., Bhavin Thumar, Kim Wanionek, Brian R. Murphy & Stephen S. Whitehea. The live attenuated dengue serotype 1 vaccine rDEN1Δ30 is safe and highly immunogenic in healthy adult volunteers. *Human Vaccines*. 2006;2:167-73.
71. Vaughn DW, Hoke CH, Jr., Yoksan S, LaChance R, Innis BL, Rice RM, et al. Testing of a dengue 2 live-attenuated vaccine (strain 16681 PDK 53) in ten American volunteers. *Vaccine*. 1996;14(4):329-36.
72. Bancroft W, Top F, Eckels K, Anderson J, McCown J, Russell P. Dengue-2 vaccine: virological, immunological, and clinical responses of six yellow fever-immune recipients. *Infection and immunity*. 1981;31(2):698-703.

FIGURA 1
Diagrama Prisma

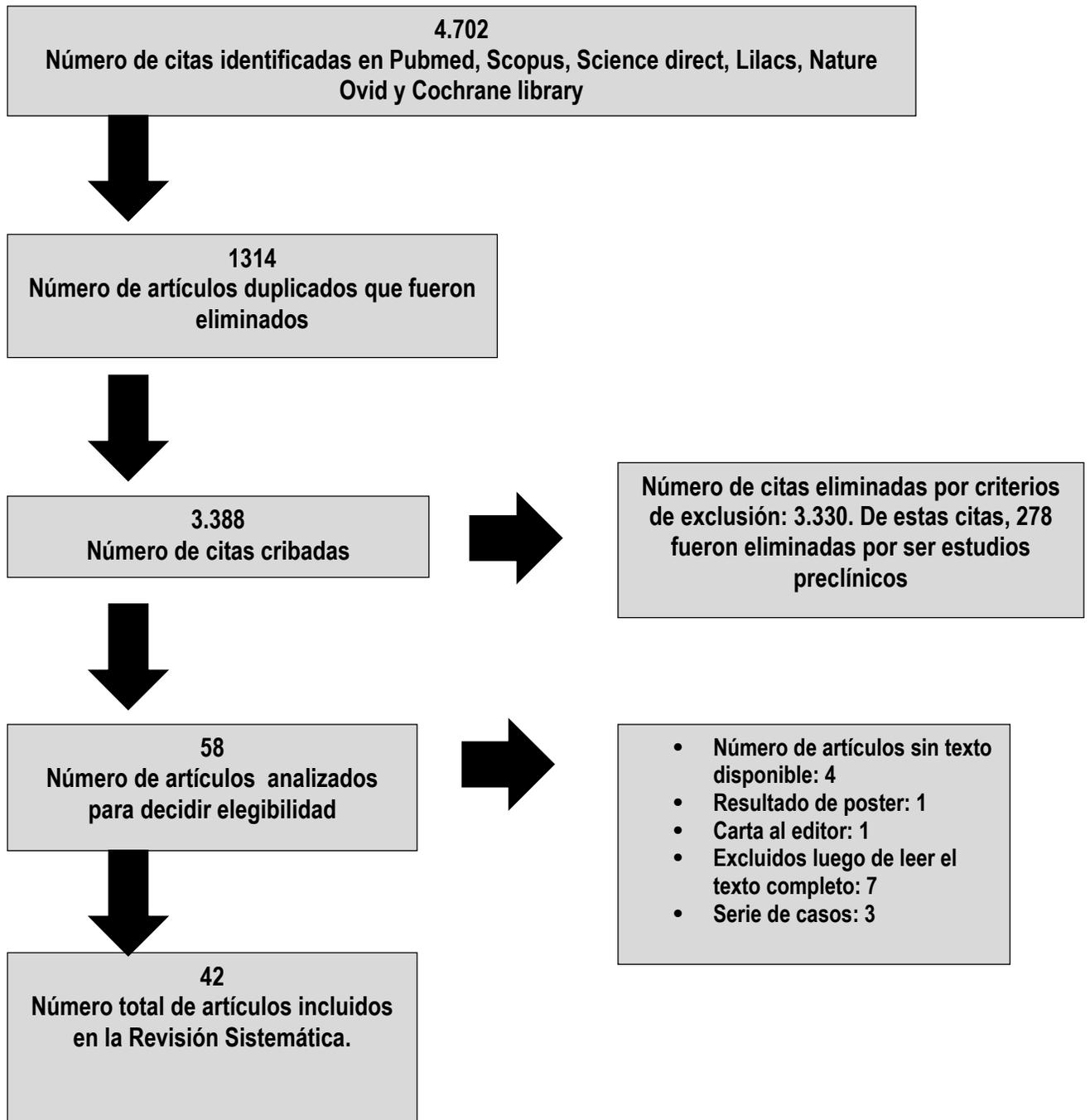


FIGURA 2

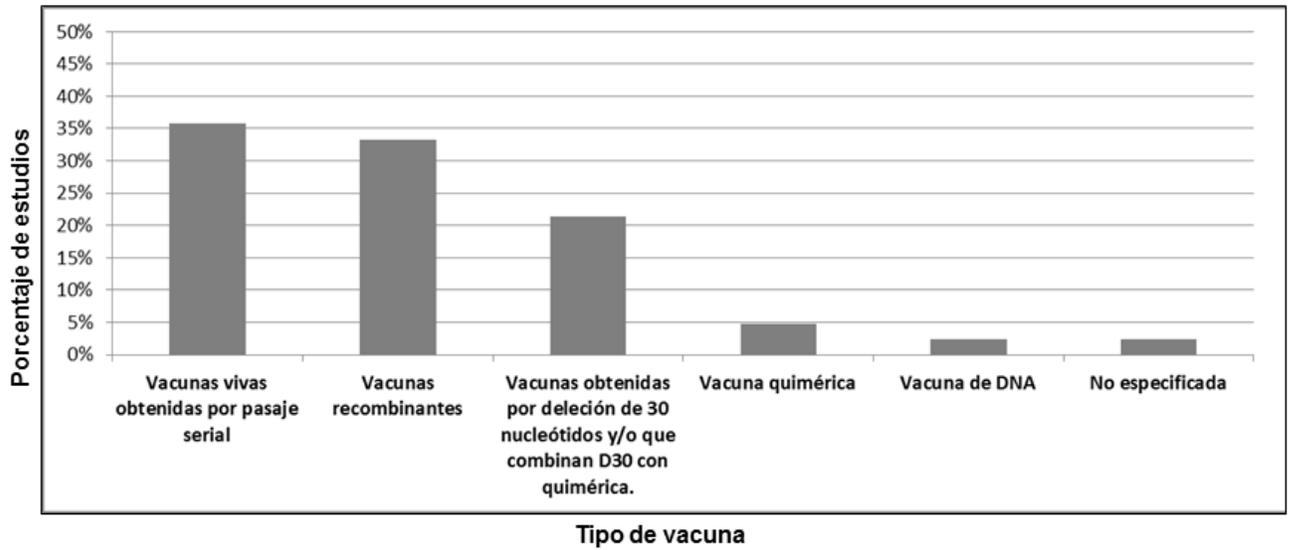


Figura 2. Porcentaje de estudios según el tipo de vacuna evaluada. Se observa que las vacunas más estudiadas son las vacunas vivas obtenidas por pasaje serial.

FIGURA 3

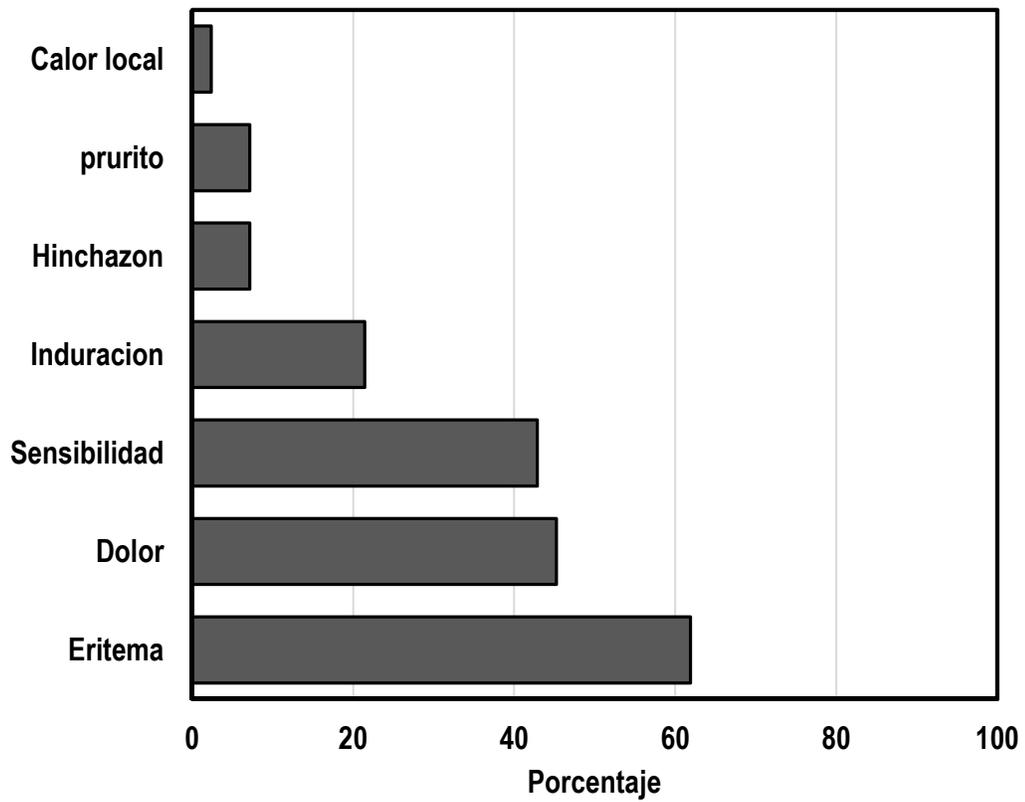


Figura 3

Síntomas locales más reportados en los estudios incluidos en la revisión. En la figura se observa cada síntoma local que puede ser reportado por uno o más de un estudio, el porcentaje que se grafica corresponde al porcentaje de estudios que reportan el evento. Ningún síntoma es reportado en el 100% de los estudios.

FIGURA 4.

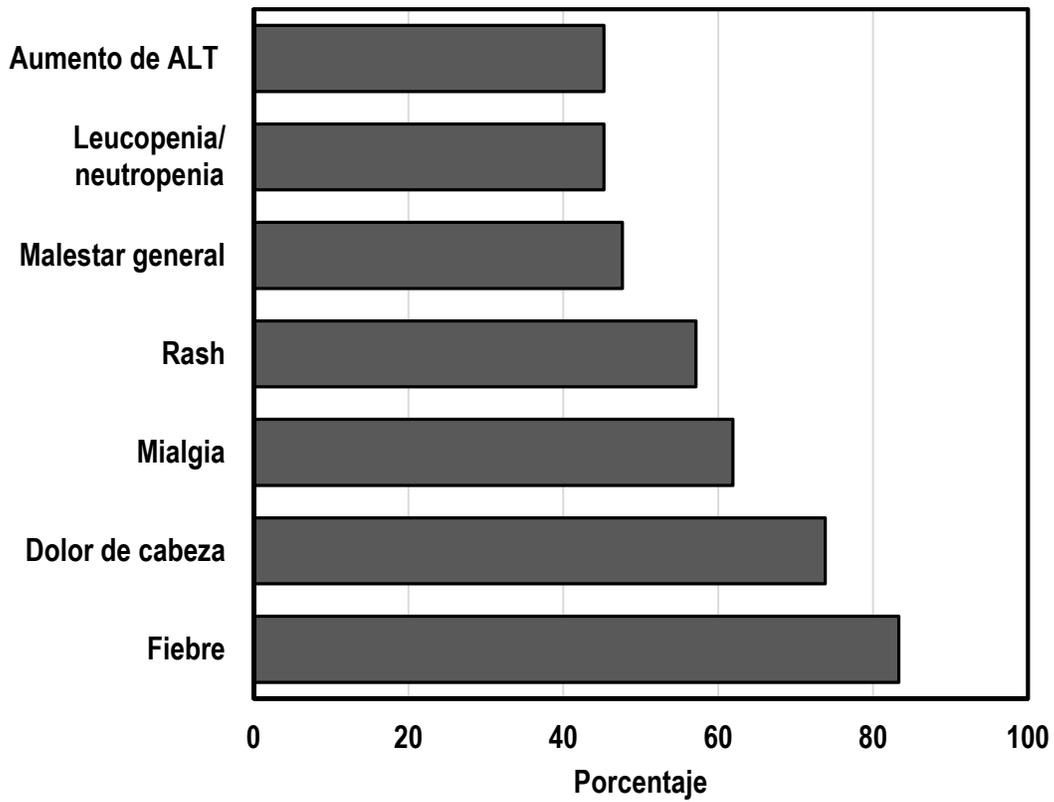


Figura 4

Síntomas sistémicos más reportados en los estudios incluidos en la revisión. En la figura se observa cada reacción sistémica que puede ser reportada por uno o más de un estudio. El porcentaje que se grafica corresponde al porcentaje de estudios que reportan el evento. Ningún síntoma es reportado en el 100% de los estudio.

FIGURA 5

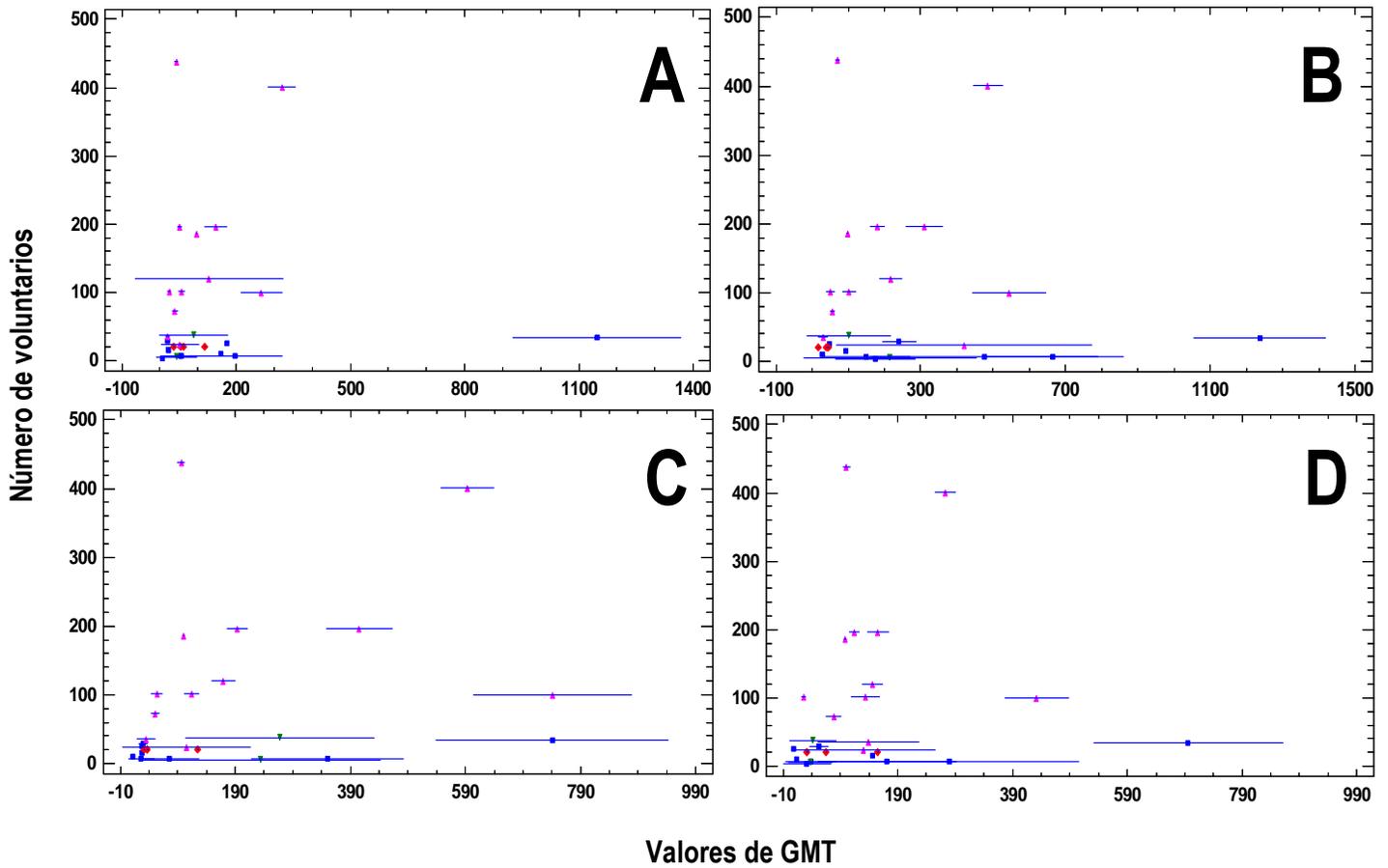


Figura 5

Valores de GMTs en relación al número de voluntarios en los estudios para vacunas tetravalentes disponibles, según respuesta a cada serotipo viral. Se observan los valores de GMT para DENV-1 (A), DENV-2 (B), DENV-3 (C) y DENV-4 (D). Adicionalmente se observa la distribución de los valores según casa farmacéutica. De color fucsia se identifican los estudios de la Casa farmacéutica Sanofi Pasteur, de color azul los de GlaxoSmithKline, de color Rojo el estudio de National Institute of Allergy and Infectious Diseases LATV y de color verde el perteneciente a la casa farmacéutica Aventis Pasteur. Se observan amplios intervalos de confianza en los GMT de los estudios, mayor respuesta fue observada en los serotipos DENV-1 y DENV-2.

FIGURA 6

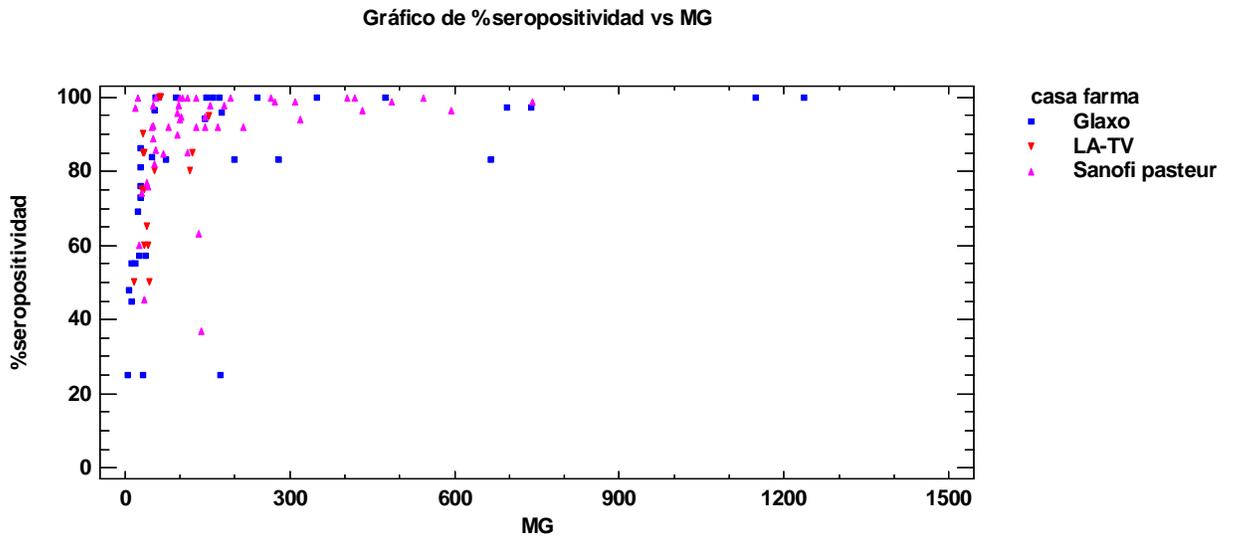


Figura 6. Porcentaje de seropositividad en relación al título de media geométrica reportada, según casa farmacéutica. De color fucsia se identifican los estudios de la Casa farmacéutica Sanofi Pasteur, de color azul los de GlaxoSmithKline, de color Rojo el estudio de National Institute of Allergy and Infectious Diseases LATV. No se graficó el estudio de la casa farmacéutica Aventis Pasteur por que no proporcionaron los datos de seropositividad. Se observa que la mayoría de estudios publicados presentan altos porcentajes de seropositividad además los GMT inducidos por las diferentes vacunas por lo general son menores a 700, títulos más altos son raramente observados y son inducidos por el estudio de la casa farmacéutica GlaxoSmithKline.

Tabla 1
Descripción general de los artículos incluidos en la revisión.

Item	Casa farmacéutica	Nombre de la vacuna	Tipo de vacuna	Fase de desarrollo	Número de participantes	Población	Zona en la que se realizó el estudio	Referencia
1	Sanofi Pasteur	CYD-TDV	Viva atenuada Recombinante	2	1198	Todos	Singapur	Leo Yee S, 2012
2	Sanofi Pasteur	CYD-TDV	Viva atenuada Recombinante	2	180	Todos	Long Xuyen, Vietnam	Tran N.H., 2012
3	Sanofi Pasteur	CYD-TDV	Viva atenuada Recombinante	2	300	Niños y adolescentes	Perú	Lanata C.F, 2012
4	Sanofi Pasteur	CYD-TDV	Viva atenuada Recombinante	2b	4002	Niños y adolescentes	Tailandia, Bangkok	Sabchareon A., 2012
5	Sanofi Pasteur	CYD-TDV	Viva atenuada por recombinación	2	150	Adolescentes	Vitória Brazilian	Dayan G. H., 2013
6	Sanofi Pasteur	CYD-TDV	Viva atenuada Recombinante	3	250	Niños y adolescentes	Malasia	Amar S.H, 2013
7	Sanofi Pasteur	CYD-TDV	Viva atenuada Recombinante	2	600	Adolescentes	Colombia, Honduras, México, Puerto Rico	Villar LÁ, 2013
8	Sanofi Pasteur	CYD-TDV	Viva atenuada Recombinante	3	10275	Niños y adolescentes	Indonesia, Malasia, Filipinas, Tailandia, Vietnam	Capeding N. H., 2014
9	Sanofi Pasteur	CYD-TDV	Viva atenuada Recombinante	2	260	Adultos	USA (California, Alabama, Misuri, Nueva Orleans)	Gustavo H Dayan G.H, 2013
10	Sanofi Pasteur	TDV	Viva atenuada Recombinante	1	126	Todos	México	Poo J, 2010
11	Sanofi Pasteur	TDV	Viva atenuada Recombinante	1	126	Todos	Filipinas	Capeding R.Z, 2011
12	Sanofi Pasteur	TDV (chimerivax)	Viva atenuada Recombinante	1	66	Adultos	Springfield, Misuri	Dennis Morrison D.,2010
13	Sanofi Pasteur	TDV	Viva atenuada Recombinante	2a	35	Adultos	Australia	Qiao M. et al 2011
14	Sanofi Pasteur (Aventis Pasteur)	Formulación 3313 y 3212	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/GMK	1b	10	Adultos	Australia	Scott K, 2006
15	Aventis Pasteur	Formulación 7	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRhL	1b	59	Adultos	Bangkok	Sabchareon A., 2002
16	GlaxoSmithKline, U.S. Army Medical Research y Materiel Command (Fort Detrick, MD)	DENV (F17-F19)	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRh	2	86	Adultos	USA	Thomas SJ,2013
17	GlaxoSmithKline. U.S. Army Medical Research Acquisition Activity, Ft. Detrick, Frederick, MD USA	Formulación 13,14 y 17	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRh	2	71	Adultos	Maryland	Sun W, 2009
18	GlaxoSmithKline. US Army Medical Materiel Development Activity [USAMMDA]	Formulación 17 y 19	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRhL	2	120	Adultos	Bangkok (Tailandia)	Watanaveeradej V., 2014
19	GlaxoSmithKline y Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR)	NE	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRhL	1	14	Niños	Bangkok (Tailandia)	Simasathien S., 2008
20	GlaxoSmithKline. US Army Medical Research and Materiel Command (Fort Detrick, MD)	NE	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRh	1	51	Niños	Bangkok (Tailandia)	Watanaveeradej V, 2011
21	GlaxoSmithKline	16 Formulaciones.	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRh	1	64	Adultos	Baltimore Maryland	Edelman R., 2003

Tabla 1 (Continuación)
Descripción general de los artículos incluidos en la revisión.

Item	Casa farmacéutica	Nombre de la vacuna	Tipo de vacuna	Fase de desarrollo	Número de participantes	Población	Zona en la que se realizó el estudio	Referencia
22	the National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) Intramural Research Program, National Institutes of Health	LATV	Delección de 30 Nucleótidos 3 UTR	1	113	Adultos	Baltimore, Maryland, Washington, Burlington, Vermont	Durbin AP, 2013
23	Inviragen (ahora Takeda Vaccines)	DENVax	Viva atenuada Recombinante	1	96	Adultos	Colombia (Antioquia, Rionegro)	Osorio J.E.,2014
24	Ninguna US Army Medical Research Institute of Infectious Diseases (USAMRIID)	45AZS	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRh	1	29	Adultos	Washington/Baltimore	Edelman R,1994.
25	Ninguna (Work unit Flavivirus Vaccine Research)	D1ME100	DNA	1	22	Adultos	USA	Beckett CG,2011
26	Ninguna (NIAID intramural research program)	rDEN1D30	Delección de 30 Nucleótidos 3 UTR	1	28	Adultos	Baltimore, Maryland	Durbin A.P., 2006.
27	Ninguna (The Intramural Research Program of the National Institutes of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health)	rDEN1D30	Delección de 30 Nucleótidos 3 UTR	1	62	Adultos	Baltimore, Maryland, Área Metropolitana de Washington	Durbin AP,2011
28	Ninguna	PR-159/S-1	no especifica metodo de atenuación (Viva atenuada)	1	148	Adultos	Carolina del Norte USA	W. H. Scott.,et al. 1984.
29	Ninguna	Cepa 16681 PDK 53 (DENV-2)	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRh	1	10	Adultos	Tailandia	Vaughn DW, 1996
30	Sanofi Pasteur	ChimeriVax™-DEN2	Viva atenuada por quimerización	1	56	Adultos	medio oeste USA	Guirakhoo F, 2006
31	Ninguna (WHO Regional Offices for South-East Asia and the Western Pacific and the Australian Development Assistance Bureau)	Cepa 16681 PDK 53 (DENV-2)	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRh	1	10	Adultos	Bangkok (Pong Mae Lob)	Bhamarapravati N.,1987
32	Ninguna (NIH, NIAID, the Mid-Atlantic Regional Center of Excellence for Biodefense and Emerging Infectious Diseases Research)	rDEN2/4Δ30	Viva atenuada por quimerización	1	28	Adultos	Baltimore	Durbin A.P., 2006.

Tabla 1 (Continuación)

Descripción general de los artículos incluidos en la revisión.

Item	Casa farmacéutica	Nombre de la vacuna	Tipo de vacuna	Fase de desarrollo	Número de participantes	Población	Zona en la que se realizó el estudio	Referencia
33	Ninguna (Salk Institute, Swiftwater, Pal, provee virus)	PR-159/S-1,	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRh	NR	38	Adultos	Usa ^a	Scott R.M ,1983
34	Ninguna	2ADelta30 (DENV-4)	Delección de 30 Nucleótidos 3 UTR	1	20	Adultos	Baltimore, Maryland.	Durbin A.P, 2001
35	Ninguna (National Institutes of Health)	rDEN4d30	Delección de 30 Nucleótidos 3 UTR	2	72	Adultos	Baltimore, Maryland	Durbin A.P, 2005
36	NIAID (Intramural Research Program), National Institutes of Health.	rDEN4 30-200,201	Delección de 30 Nucleotidos 3 UTR	1	28	Adultos	Baltimore, Maryland	McArthur J.H, 2008
37	NIAID (Intramural Research Program of the National Institutes of Allergy and Infectious Diseases) National Institutes of Health	rDEN4D30-4995	Delección de 30 Nucleotidos 3 UTR	1	28	Adultos	Usa	Wright P.F, 2009
38	Ninguna (United States Army Medical Research and Materiel Command)	DEN-1(45AZ5), DEN-2(S16803),DEN-3(CH53489),DEN-4(341750)	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRh	1	63	Adultos	Washington(Columbia, Baltimore)	Sun W, 2003
39	Aventis Pasteur. US Army Medical Research and Materiel Command	AvP monovalent and tetravalent attenuated	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRh	1	40	Adultos	USA	Kanesa-thasan N,2001.
40	Ninguna identificada	DENV-1 45AZ5, DENV-2 S16803, DENV-3 CH53489, DENV-4 341750	Viva atenuada por pasaje serial en PDK/FRh	1	65	Adultos	Maryland Baltimore	Kanesa-Thanan N, 2003
41	Intramural Research Program of the National Institutes of Health, National Institute of Allergy and Infectious Disease)	DEN1D 30,DEN2/4D 30, and DEN3D 30/31	Delección de 30 Nucleótidos 3 UTR	1	64	Adultos	USA ^a	Lindow J, 2013
42	Ninguna (National Institute of Allergy Infectious Diseases Division of Intramural Research, National Institutes of Health)	rDEN1D30, rDEN2/4D30	Viva atenuada recombinante (y con delección 30 nucleótidos)	1	36	Adultos	Baltimore. Maryland	Durbin AP, 2011.
<p>^a : no especificado el lugar donde se desarrollo el estudio, parecese ser USA por la procedencia de los autores.</p>								

Tabla 2
Diferentes tipos de formulación relacionados con las fases de desarrollo.

TIPO DE FORMULACIÓN	FASES DE DESARROLLO				
	Fase I	Fase II	Fase III	No reportada	Total
Monovalentes + tetravalentes	2 (4.8%)	0	0	0	2 (4.8%)
Varias monovalentes	3 (7.1%)	0	0	0	3 (7.1%)
Monovalentes DEN1	4 (9.5%)	0	0	0	4 (9.5%)
Monovalentes DEN2	5 (11.9%)	0	0	1 (2.4%)	6 (14.3%)
Monovalentes DEN4	3 (7.1%)	1 (2.4%)	0	0	4 (9.5%)
Tetravalentes	10 (23.8%)	11 (26.2%)	2 (4.8%)	0	23 (54.8%)
Total	27 (64.2%)	12 (28.6%)	2 (4.8%)	1 (2.4%)	42 (100%)

Tabla 3.**Edad de los voluntarios incluidos en los estudios analizados en relación a la fase de desarrollo de cada estudio.**

FASES DE DESARROLLO	POBLACIÓN DE ESTUDIO					
	Adultos	Niños	Adolescente	Niños y adolescentes	Todas las edades	TOTAL
Fase I	23 (85,2%)	2 (7.4%)	0 (0%)	0	2 (7,4%)	27 (100%)
Fase II	6 (50%)	0 (0%)	2 (16.7%)	2 (16.7%)	2 (16.7%)	12 (100%)
Fase III	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	2 (100%)
No reportado	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)

TABLA 4

Descripción de los aspectos tenidos en cuenta para la evaluación de la calidad metodológica en los Ensayos Clínicos Controlados.

ITEM	SESGO DE SELECCIÓN (VALIDEZ)			SESGO DE REALIZACIÓN		PRECISION	RIESGO DE DESERCIÓN		RESULTADOS				REFERENCIA
	Tema enfocado claramente	Aleatorio	Similitud entre los grupos	Grupos con el mismo tratamiento	Cegamiento	Número de participantes	Abandonos	Suspensión del ensayo	Seropositividad	Reporte de GMT	Control reportado para ambos resultados	Línea de base reportado para ambos resultados	
1	Si	Si	No	Si	C	1198	87 (7,2%)	No	Si	Si	Si	Si	Leo 2012
2	Si	Si	No	Si	C	180	8 (4,4%)	No	Si	Si	Si	No	Tran A ,2012
3	Si	Si	Si	Si	C	298	24 (8,1%)	No	Si	Si	Si	Si	Ianata et al 2012
4	Si	Si	Si	Si	Oe	4002	174 (4,3%)	No	Si	Si	Si	Si	Sabchareon et al, 2012
5	Si	Si	No	Si	C	150	15 (10%)	No	Si	Si	Si	Si	Dayan G., et al. 2013
6	Si	Si	No	Si	C	250	4 (1,6%)	No	Si	Si	No	Si	Amar S.H, 2013
7	Si	Si	Si	Si	C	600	56 (9,3%)	No	G	Si	Si	Si	Villar et al, 2013
8	Si	Si	Si	Si	Oe	1275	81 (6,3%)	No	Si	Si	Si	No	Capeding N. H. et al, 2014
9	Si	Si	Si	Si	DC	260	55 (21,2%)	No	Si	Si	Si	Si	Dayan et al, 2013 USA
10	Si	Si	Si	Si	C	126	18 (14,3%)	No	Si	Si	No	Si	Poo 2010
11	Si	Si	Nd	Si	C	126	7 (5,5%)	No	Si	G	Si	Si	Capeding R.Z, 2011
12	Si	Si	Si	Si	DC/A	66	17 (25,8%)	No	Si	G	No	Si	Morrison, 2010
13	Si	No	Si	Si	A	35	0	No	Si	Si	No	No	quiaoet al , 2011
14	Si	Nd	Nd	Nd	Nd	10	0	Si	No	Si	No	No	Scott K, 2006
15	Si	Si	Si	Si	Dc	59	2 (3,6)	No	Si	Si	No	No	Sabchareon,2002
16	Si	Si	Si	No	C	86	11(12,7%)	No	Si	Si	Si	No	Thomas, 2013
17	Si	Si	Nd	Nd	Dc	71	18 (25,4%)	No	Si	Si	No	No	Sun W, 2009
18	Si	Si	Nd	Si	Dc	120	4 (3,3%)	No	Si	Si	No	Si	Watanaveeradej et al. 2014
19	Si	Nd	Nd	Si	A	14	Nd	No	Si	Si	No	No	Simasathien S. et al, 2008
20	Si	Si	Si	Si	C	51	1(2%)	No	Si	Si	Si	No	Watanaveeradej et al, 2011
21	Si	Nd	Nd	No	C	64	1 (1,6%)	No	Si	Si	No	No	Edelman R., 2003
22	Si	Si	Si	Si	Dc	131	1 (0,7%)	No	Si	Si ^j	No	No	Durbin AP, 2013
23	Si	Si	Nd	Si	Dc	96	5 (5,2%)	No	Si	G	No	No	Osorio J.E.,2014
24	Si	Nd	Nd	Si	Nd	29	0	No	Si	Si	No	No	Edelman R., Et al. 1994
25	Si	Nd	Nd	Si	A	22	0	No	Si	Di	No	No	Beckett CG., Et al. 2011
26	Si	Si	Si	Si	Dc	28	Nd	No	Si	Si	No	Si	Durbin A. Et al. 2006
27	Si	Si	Si	Si	Dc	62	7 (11,3%)	No	Si ^a	Si ^k	No	No	Durbin AP,Et al. 2011
28	Si	Si	Nd	Si	Dc	148	30 (20,3%)	No	No	G/Di	No	No	W. H. Scott 1984
29	Si	Si	Si	Si	Dc/A	56	Nd	No	Si ^b	Si	Si	No	Guirakhoo F, 2006
30	Si	No	No	Si	Nd	10	0	No	No	Si	No	No	Bhamarapravati N.,1987
31	Si	Si	Si	Si	Dc	28	Nd	No	Si ^c	Si ^k	No	Si	Durbin A.P, 2006.
32	Si	Nd	Nd	Si	Nd	38	0	No	Si ^d	Si	No	Si	Scott R.M ,1983*
33	Si	Si	Nd	Si	Dc	72	Nd	No	Si ^e	Si	Si	No	Durbin A.P, 2005
34	Si	Si	Nd	Si	Dc	28	Nd	No	Si ^c	Si	No	No	McArthur J.H, 2008
35	Si	Si	Si	Si	Dc	28	Nd	No	Si ^f	Si	No	No	Peter F Wright P.F, 2009
36	Si	Si	Nd	No	Dc	63	7(11,1%)	No	Si	Si	Si	No	Sun W, 2003
37	Si	Si	Si	Si	Dc	40	Nd	No	Si ^g	Si	No	No	Kanesa-thasan N,2001.
38	Si	Si	Nd	Nd	C	65	3 (4.6%)	No	Si ^h	Si ^k	No	No	Kanesa-Thasan N, 2003
39	Si	Si	No	Si	Dc	64	Nd	No	Si ⁱ	Si ^k	Si	No	Lindow J, 2013
40	Si	Si	Si	Si	Dc	36	Nd	No	Si ^e	Si	No	No	Durbin AP, 2011.

Nd: No determinado.

Dc: doble ciego.

a Seroconversión es definida como un >4 veces más en PRNT 60 al día 28 o 42 pos vacunación.

b Tasa de seroconversión.

c Seroconversión definida como ± 4 veces más en suero el título de anticuerpos para el serotipo homólogo.

d Inmunización definida como aumento en títulos de Ac neutralizantes >10 .

e Seroconversión definida como un aumento 4 veces más en título de Ac para el día 42 comparado con la pre vacunación que es de < 10 .

f Seroconversión es definida como incremento ≥ 4 veces en suero de Ac por PRNT 60.

g Definida como PRNT50 mayor a 1:10.

h Definida como un valor de IgM > 0.10 densidad óptica, HAI 1:10 o PRNT50 1:10.

i Seroconversión definida como aumento ≥ 4 veces en PRNT60 a los 28 días o títulos ≥ 20 en el día 42, comparados con la pre vacunación.

j Reportada por individuo.

G= Grafico,

Di= Dilución.

k: PRNT60

TABLA 5**Descripción de los aspectos tenidos en cuenta para la evaluación de la calidad metodológica en los Ensayos Clínicos No Controlados.**

Item	Seropositividad	GMT	Control	Línea de base	Tema enfocado claramente	Descripción de la población	Número de participantes	Abandonos	Suspensión del ensayo	Efecto del tratamiento, Intervalos de confianza	Referencia
1	No	G ^a	No	No	Si	No	10	No	No	No	Vaughn DW, 1996
2	Si	Si ^b	No	Si	Si	No	20	No	No	Si	Durbin A.P, 2001

a : miden IgM por Elisa.

b: PRNT60.

G: resultado dado en gráficos

Tabla 6.

Resumen de resultados de inmunogenicidad y seguridad de los estudios tetravalentes de vacunas para dengue.

NÚMERO DE ESTUDIOS	SEROTIPO	INMUNOGENICIDAD		SEGURIDAD		Referencia
		GMT	SEROPOSITIVIDAD	LOCAL	SISTÉMICO	
12	DENV-1	6,1 - 1148	65 - 100%	Eritema, sensibilidad, dolor, edema.	Fiebre, rash, dolor de cabeza, malestar, astenia, mialgia, neutropenia, leucopenia elevación ALT, sangrado, pérdida de plasma, trombocitopenia, elevación CPK, AST, ALT y bilirrubina, incremento Hb y Hto, viremia.	sanofi pasteur chimerivax (CYD-TDV / TDV) 3 DOSIS ^a
	DENV-2	17-1236,25	77 - 100%			
	DENV-3	26,5 - 741	75 -100%			
	DENV-4	25,9 - 695,8	68 -100%			
1	DENV-1	5-45,8	0-95%	Eritema, dolor, prurito o hemorragia local.	Linfadenopatía, fiebre, dolor de cabeza, malestar, astenia, mialgia, leucopenia, neutropenia, elevación de ALT, alguna reacción adversa, reacción adversa severa, desorden de sistema sanguíneo o linfático, desorden muculo esquelético, de tejido conectivo o sistema nervioso.	Sanofi pasteur chimerivax (CYD-TDV / TDV) 1 DOSIS
	DENV-2	7,67-52,5	25-80%			
	DENV-3	28,8-41,4	59-87%			
	DENV-4	91,1-221	65-100%			
1	DENV-1	NR	60%	Dolor den el sitio de inyección, eritema.	Aumento de AST, neutropenia, hepatomegalia, espleomegalia, náuseas, malestar, dolor de cabeza, dolor ocular, altralgia, rash, fiebre, linfadenopatía.	Sanofi pasteur (Adventis Pasteur) 3313 y 3212. Viva atenuada por PDK/FRh
	DENV-2	NR	40%			
	DENV-3	NR	50%			
	DENV-4	NR	60%			
6	DENV-1	6,1-1197	25 -100%	Sensibilidad, dolor, eritema.	Linfadenopatía, fiebre, rash, altralgia, dolor ocular y de cabeza, fatiga, astenia, mialgia, vómito, hepatomegalia, esplenomegalia, inyección conjuntival, sangrado de mucosas, petequias, prurito, anorexia, náuseas, conjuntivitis hepatomegalia, incremento de la CPK, ALT, AST, irritabilidad, pérdida del apetito, somnolencia, tos, enfermedad sistémica,	GlaxoSmithKline. Viva atenuada por PDK/FRh ^b 2 DOSIS
	DENV-2	29-1236,25	73 -100%			
	DENV-3	12-740,55	0 -100%			
	DENV-4	8-695,8	48 -100%			
1	DENV-1	27,9-193	77-100%	Fiebre.	Neutropenia, trombocitopenia, elevación ALT, viremia.	Aventis Pasteur. viva atenuada por pasaje en PDK/FRh.
	DENV-2	37,6-353	57 - 100%			
	DENV-3	205-329	100%			
	DENV-4	55-101	40 -100%			
1	DENV-1	36-118	75-100%	Eritema, induración, sensibilidad.	Rash, altralgia, dolor de cabeza y ocular, mialgia, leucopenia, aumento ALT y viremia.	National Institute of Allergy and Infectious Diseases LATV
	DENV-2	44-17	50-65%			
	DENV-3	31-124	60-85%			
	DENV-4	32-154	85-100%			
1	DENV-1	90-200	94,7 -100%	Dolor, errojecimiento, sensibilida, prurito.	Fiebre, dolor de cabeza y ocular, artralgia, mialgia, fotofobia, fatiga, rash, nauseas, vómito	Takeda Vaccines (antes Inviragen). DENVax ^c
	DENV-2	500-2000	76,2 - 94,1%			
	DENV-3	75-300	94,7-100%			
	DENV-4	9-70.	47,4-95,2%			

a :No incluido el artículo de Capeding R.Z, 2011 en el parámetro de GMT por que los datos están en gráfico, no es posible interpretarlo. Además, la seropositividad

no incluye los artículos de: Dayan G. H., 2013, Tran N.H., 2012) y Capeding N. H., 2014; porque no reportan seropositividad.
b: No incluido el artículo de Edelman R, et al. 2003; por inconsistencias.
c: Datos extraídos de gráfico, pueden tener errores de interpretación.

Tabla 7.
Resumen de resultados de inmunogenicidad y seguridad de los estudios de vacunas monovalente para DENV-1

Item	Control	Inmunogenicidad		Seguridad		Referencia
		GMT	Seropositividad	Local	Sistémica	
1	Es atenuada por pases PDK 10, 20 y 27. Compara entre los diferentes grados de atenuación. No incluye control	185,33 (22,46 ;1529,48)	40-100%	Eritema, sensibilidad, dolor.	Fiebre, rash, dolor de cabeza, Malestar, mialgia, altralgia, dolor de cabeza, náuseas, leucopenia, trombocitopenia elevación de la AST y ALT.	Edelman R., Et al. 1994
2	Es de DNA (Plasmido vector), evalúan dosis alta y baja. No incluyen control.	Por individuo.	0-47%	Sensibilidad y dolor.	Dolor de cabeza, mialgia, prurito, dolor ocular, náuseas, vómito y dolor abdominal.	Beckett CG., Et al. 2011
3	Delección de 30 nucleótidos en 3 UTR. Incluye control (placebo) solo para seguridad y comparan con un estudio anterior que solo tuvo 2 voluntarios.	444 (<10–6309) ^a	95% ^a	Sensibilidad.	Fiebre, rash, elevación de ALT, fotofobia, petequias, neutropenia y trombocitopenia, elevación de CPK.	Durbin A. Et al. 2006
4	Dos cortes que se usan para comparar el tiempo de refuerzo. Una aplica la segunda dosis a los 120 días la otra a los 180 días y emplean control para cada cohorte.	37 (4,91 ;278,85) ^a	84-100% ^{a,b}	Nr	Fiebre, rash, dolor de cabeza, elevación de ALT, neutropenia.	Durbin AP, Et al. 2011

a: PRNT 60.

b: Dato primera dosis, segunda no disponible

Tabla 8.

Resumen de resultados de inmunogenicidad y seguridad de los estudios de vacunas monovalente para DENV-2.

Item	Control	Subgrupo	Inmunogenicidad		Seguridad		Referencia
			GMT	Seropositividad	Local	Sistémica	
1	Vacunados y control (placebo), pero de los vacunados solo reportan datos del grupo de seropositivos. ^a	Inmunes a fiebre amarilla.	1:86	NR	Rash.	Fiebre, dolor de cabeza, náuseas, neutropenia, escalofrío, dolor abdominal, sudoración nocturna, pérdida del apetito.	Bancroft WH., et al. 1984.
		No inmunes a fiebre amarilla	01:24	NR			
2	Comparan entre los vacunados, no emplean un grupo control. ^{a,b,c}	NA	1:231/1:157,	NR	Eritema.	Fiebre, rash, dolor de cabeza, malestar, mialgia, altralgia, dolor ocular, náuseas, conjuntivitis, leucopenia, elevación de AST, prurito, anorexia, anemia y síntomas gástricos.	Vaughn DW, et al 1996
3	No control ^d	No inmunes a JE.	40-680	NR	Fiebre.	Dolor de cabeza, Mialgia, dolor ocular, náusea, vómito, dolor abdominal, diarrea, anorexia.	Bhamarapavati N. et al. 1987
		Inmunes a JE.	400-1200	NR			
4	No utilizan grupo control, son dos grupos que comparan los que tienen inmunidad preexistente y los que no	Inmune YF	235	0-100%	NR	dolor de cabeza, mialgia	Scott R. M, et al, 1983
		No inmune YF.	49	25-60%			
5	Cuatro grupos: alta y baja dosis no inmunes a flavivirus y alta dosis inmunes a flavivirus y como control YF-VAX® no inmunes ^e .	3.0 log 10 YF-no inmunes	570	100%	Dolor.	Fiebre, rash, dolor de cabeza, malestar, mialgia, induración, altralgia, dolor ocular, astenia, diarrea, faringo-laringitis	Guirakhoo F, 2006. CHIMERIVAX
		5.0 log 10 YF-no inmunes	921,3	100%			
		5.0 log10 YF-inmunes	974,4	100%			
6	Utiliza placebo como control ^f .	NA	147 (11- 1043)	100%	Eritema.	Rash, dolor de cabeza, malestar, náuseas, neutropenia, ALT, aumento de CPK, TP Y TPT alargados.	Durbin AP et al, 2006.

a: Datos reportados como dilución, no como GMT.

b: Grafico sin intervalos de confianza.

c: con evaluación a los 60 días.

d: Dan el valor por cada participante.

e: Sin intervalos.

f :PRNT 60 y GMT día 48.

Tabla 9.

Resumen de resultados de inmunogenicidad y seguridad de los estudios de vacunas monovalente para DENV-4

Item	Control	Subgrupo	Inmunogenicidad		Seguridad		Referencia
			GMT	Seropositividad	Local	Sistémica	
1	No emplean control, son veinte voluntarios divididos en tres cohortes de 4, 6 y 10 voluntarios pero todos vacunados.	NA	580	100%	Eritema. fiebre, rash, dolor de cabeza, petequias, leucopenia, elevación de ALT y AST.	Fiebre, rash, dolor de cabeza, petequias, leucopenia, elevación de ALT y AST .	Durbin A.P, 2001
2	Tres cohortes con diferente concentración y un placebo, además comparan con un dato histórico.	10 ³ .	139 (5–2365)	95%	Eritema, induración, sensibilidad.	Fiebre, rash, neutropenia, elevación de ALT.	Durbin A.P, 2005
		10 ² .	189 (5–904)	95%			
		10 ¹ .	380 (5–5218)	100%			
3	Emplean un control y lo compara con el único grupo vacunado.	NA	100 ^a	100%	Nr	Fiebre, Rash, altralgia, dolor de cabeza, náuseas, leucopenia, trombocitopenia, incremento de CPK, TP alargado y anemia.	McArthur J.H, 2008
4	Emplean un control y lo compara con los vacunados además de un histórico	NA	150 (74–227)	95%	Eritema.	Rash, dolor de cabeza, fatiga o malestar, neutropenia, elevación de ALT.	Wright P.F, 2009

a: PRNT 60

Tabla 10
Resumen de resultados de inmunogenicidad y seguridad de otras formulaciones.

Item	Control	Serotipo Evaluado	Formulación	Inmunogenicidad		Seguridad		Referencia
				GMT	Seropositividad	Local	Sistémica	
1	Como control emplearon la vacuna de YF. ^{a, b}	DENV-1	DENV-1	513	100%	No reportan presencia de síntomas locales (aunque en la metodología dicen medirlo)	Fiebre, rash, dolor de cabeza, mialgia, altralgia, vómito, dolor abdominal, índice de reactividad.	Sun W, 2003.
		DENV-2	DENV-2	559	92%			
		DENV-3	DENV-3	16	61%			
		DENV-4	DENV-4	9	58%			
		Tetravalente	Tetravalente	NR	No dada por PRNT			
2	Como control emplearon placebo ^c .	DENV-1	DENV-1	50	90%	No reportan presencia de síntomas locales (aunque en la metodología dicen medirlo)	Adenopatía, fiebre, rash, dolor ocular, dolor de cabeza, malestar, mialgia, leucopenia, neutropenia, elevación de ALT y AST y prurito.	Kanesa-thasan N,2001.
		DENV-2	DENV-2	650	90%			
		DENV-3	DENV-3	750	90%			
		DENV-4	DENV-4	1000	90%			
		DENV-1	Tetravalente	<50	100%			
		DENV-2	Tetravalente	<50	100%			
		DENV-3	Tetravalente	1100	100%			
		DENV-4	Tetravalente	<50	100%			
3	No usan control, comparan la vacuna con un dato histórico.	DENV-1	DENV-1	92 ± 19	93%	NR	Rash, neutropenia.	Lindow J, 2013
		DENV-2	DENV-2	19 ± 9	53%			
		DENV-3	DENV-3	119 ± 135	90%			
4	Los cuatro serotipos en forma monovalente son probados con diferentes pases de atenuación, no comparan con un control.	DENV-1	DENV-1-10	NR	78%	midieron eritema e induración pero no fueron reportados.	Fiebre, Rash, altralgia, dolor ocular, dolor de cabeza, malestar, mialgia, elevación de ALT,	Kanesa-Thasan N, 2003
		DENV-1	DENV-1-20	NR	100%			
		DENV-1	DENV-1-27	NR	40%			
		DENV-2	DENV-2-30	343	100%			
		DENV-2	DENV-2-40	640	100%			
		DENV-2	DENV-2-50	50	76%			
		DENV-3	DENV-3-0	2818	100%			
		DENV-3	DENV-3-10	710	100%			
		DENV-3	DENV-3-20	485	50%			
		DENV-4	DENV-4-15	36	100%			
5	Emplean placebo. ^c	DENV-1	rDEN1D30	231,33(34,35 ; 1558,15)	57-100%	NR	Fiebre, rash, mialgia, leucopenia, elevación de ALT.	Durbin AP, et al, 2011.
		DENV-2	rDEN2/4D30	90 (24,33 ;332,89)	100%			

a: reporte de inmunogenicidad por grafico de barras.

b: Seroconversión por PRNT y AC IgM, IgG.

c: seroconversión definida como tasa del 90% por PRNT, definido como títulos de PRNT50 mayores de 1:10 o PRNT 60.

Anexo1

Deserción en estudios con formulación tetravalente por eventos adversos

Vacuna	Referencia	Deserción o abandonos	Deserción por EA
CYD-TDV	Leo Yee S, 2012	7,20%	0.3%
	Tran N.H., 2012	4,40%	0%
	Lanata C.F, 2012	8%	0%
	Sabchareon A, 2012	4,30%	0,2%
	Dayan G. H., 2013	10%	0%
	Amar S.H, 2013	1,60%	0,8%
	Villar LÁ, 2013	9,30%	0,2%
	Capeding N. H., 2014	0,80%	0,04%
	Dayan G.H, 2013	1,20%	1,2%
	Poo J, 2010	14,30%	6,3%
	Capeding R.Z, 2011	5,50%	3,2%
	Dennis Morrison D.,2010	25,80%	3%
	Qiao M. et al 2011	0%	0%
ADVENTIS	Scott K, 2006	Ensayo suspendido	
PDK-FRHL	Thomas SJ,2013	12%	1,2%
	Sun W, 2009	25,30%	4,2%
	Watanaveeradej V., 2014	1,90%	0%
	Simasathien S., 2008	0%	0%
	Watanaveeradej V, 2011	0%	0%
	Edelman R., 2003	0%	0%
	Sabchareon A, 2002	0%	0%
LATV	Durbin AP, 2013	0,90%	0%
DENVAX	Osorio J.E.,2014	5,20%	0%

Anexo 2

Deserción en estudios de vacunas monovalentes para DENV-1 por eventos adversos

Referencia	Deserción o abandonos
Edelman R,. Et al. 1994	No reporta deserciones
Beckett CG,. Et al. 2011	No describen deserciones asociadas a SAE
Durbin A. Et al. 2006	No reporta deserciones
Durbin AP,Et al. 2011	No describen deserciones asociadas a SAE

Anexo 3

Deserción en estudios de vacunas monovalentes para DENV-2 por eventos adversos

Referencia	Deserción o abandonos
Bancroft WH., et al. 1984.	No describen deserciones pero fueron 21 vacunados y 9 placebo no dieron suero (esto puede ser considerado no cumplimiento del protocolo)
Vaughn DW, et al 1996	No deserciones
Guirakhoo F, 2006. CHIMERIVAX	No describen deserciones asociadas a SAE
Bhamarapravati N. et al. 1987	No reporta deserciones
Durbin AP et al, 2006.	No reporta deserciones
Scott R. M, et al, 1983	No describen deserciones asociadas a SAE

Anexo 4

Deserción en estudios de vacunas monovalentes para DENV-4 por eventos adversos

Referencia	Deserción o abandonos
Durbin A.P, 2005	No describen deserciones asociadas a SAE
McArthur J.H, 2008	No describen deserciones asociadas a SAE
Wright P.F, 2009	No describen deserciones asociadas a SAE

Anexo 5

Deserción en estudios de otras formulaciones por eventos adversos

Referencia	Deserción o abandonos
Sun W, 2003.	No describen deserciones propiamente dicho pero: 1 que recibio la monovalente DENV-3 se perdio en seguimiento. 1 que recibio la monovalente DENV-4 también se perdio seguimiento. 1 voluntario se retraso 30 días para la otra dosis (no protocolo), 1 voluntario se retraso 4 meses.
Kanesa-Thasan N, 2003	3 voluntarios con reacciones adversas idiosincrásicas transitorias. Dando lugar a la retirada
Lindow J, 2013	No describen deserciones asociadas a SAE
Durbin AP, et al, 2011.	No describen deserciones asociadas a SAE

Anexo 6. Lista de chequeo Prisma 2009

Sección o tema	#	Ítem de verificación	Reporte en pag #
Título			
Título	1	Identifica el reporte como revisión sistemática, meta-análisis o ambos.	1
RESUMEN			
Estructura del resumen	2	Proporcionar un resumen estructurado, incluyendo, objetivos; fuentes de datos; los criterios de elegibilidad, los participantes y las intervenciones; métodos de evaluación del estudio y síntesis; resultados; limitaciones; conclusiones e implicaciones de los hallazgos; número de registro de la revisión sistemática	2
INTRODUCCIÓN			
Razón fundamental	3	Describe los fundamentos de la revisión en el contexto de lo que ya se conoce.	4
Objetivos	4	Proporcionar una declaración explícita de la pregunta que están abordando con referencia a los participantes, las intervenciones, las comparaciones, los resultados y el diseño del estudio (PICOS).	5
MÉTODOS			
Protocolo y registro	5	Indique si existe el protocolo de la revisión, siempre y cuando se puede acceder (por ejemplo, la dirección de la web), y, en su caso, proporcionar información de registro, incluyendo el número de registro.	5
Criterio de elegibilidad	6	Especificar las características del estudio (por ejemplo, PICOS, duración del seguimiento) y reportar las características (por ejemplo, año considerado, idioma, estado de la publicación) utilizaron los criterios de elegibilidad, dando razón de ser.	5
Fuentes de información	7	Describir todas las fuentes de información (por ejemplo, bases de datos con las fechas de la cobertura, el contacto con los autores del estudio para identificar estudios adicionales) en la búsqueda y la fecha buscaron pasado.	6
Búsqueda	8	Presente estrategia completa de búsqueda electrónica de al menos una base de datos, incluidos los límites de segunda mano, de tal manera que se podría repetir.	7
Selección de estudios	9	Estado del proceso de selección de los estudios (es decir, la detección, la elegibilidad, incluida en la revisión sistemática, y en su caso, incluidos en el meta-análisis).	7
Proceso de recolección de datos.	10	Describir el método de extracción de datos de informes (por ejemplo, formas pilotadas, de forma independiente, por duplicado) y cualquier proceso de obtener y confirmar los datos de los investigadores.	7
Ítem de datos	11	todas las variables para las que se buscaron datos (por ej., PICOS, fuente de financiación) y cualquier asunción y simplificación que se hayan hecho.	7
Riesgo de sesgo en estudios individuales	12	Describir los métodos utilizados para la evaluación del riesgo de sesgo de los estudios individuales (incluyendo la especificación de si esto se hace en el nivel de estudios o el resultado), y cómo es que esta información sea utilizada en cualquier síntesis de los datos.	8, 39-40 (tablas)
Medidas de resumen	13	Indique las principales medidas de resumen (por ejemplo, la relación de riesgo, diferencia de medias).	8
Síntesis de los resultados	14	Describir los métodos de manejo de datos y la combinación de resultados de los estudios, si se hace, incluidas las medidas de consistencia para cada meta-análisis.	10-16 y 38-49

Anexo 5. Lista de chequeo Prisma 2009 (continuación)

Sección o tema	#	Ítem de verificación	Reporte en pag #
Análisis adicionales	16	Describir los métodos de análisis adicionales (por ejemplo, la sensibilidad o análisis de subgrupos, meta-regresión), si se hace, que indica que fueron pre-especificado	8
RESULTADOS			
Selección de estudios	17	Dar número de estudios seleccionados, Opinión de elegibilidad, y se incluye en la revisión, con Motivos de exclusiones en cada etapa, a ser posible con un diagrama de flujo.	9 y 28
Características del estudio	18	Para cada estudio presentar las características para las que se extrajeron los datos (por ej., tamaño, PICOS y duración del seguimiento) y proporcionar las citas bibliográficas	34-35 (tablas)
Riesgo de sesgo en los estudios	19	Los datos sobre el riesgo de sesgo de cada estudio y, si es posible, cualquier evaluación de sesgo a nivel de resultados (véase el punto 12).	38 (tabla)
Resultados de estudios individuales	20	Para todos los resultados considerados (beneficiosos o dañinos), presentados, para cada estudio: (a) dato resumen para cada grupo de intervención. (b) efecto estimado e intervalos de confianza. Idealmente en foresplot.	41 a 45
Síntesis de resultados	21	Corrección: "Presentar los principales resultados de la revisión Si se hacen metanálisis, incluye para cada uno, los intervalos de confianza y medidas de consistencia." De acuerdo con el texto en el documento Explicación y elaboración.	9 a 14
Riesgo de sesgo en los estudios	22	Presentar los resultados de cualquier evaluación del riesgo de sesgo en los estudios (see Item 15).	38-39 (tabla)
Análisis adicionales	23	Describir los métodos de análisis adicionales (por ejemplo, la sensibilidad o análisis de subgrupos, meta-regresión), si se hace, que indica que fueron pre-especificado [see Item 16]).	11 a 14 y 41 a 45.
DISCUSIÓN			
Resumen de la evidencia	24	Resume los principales hallazgos, incluyendo la fuerza de la evidencia para cada resultado principal; considerando la relevancia para los grupos clave (por ejemplo, los proveedores de salud, usuarios y responsables políticos).	15-19
Limitaciones	25	Discute las limitaciones de los estudios y los resultados (por ejemplo, el riesgo de sesgo), y de la revisión (por ejemplo, obtención incompleta de información, sesgo de información).	15
Conclusión	26	Proporciona una interpretación general de los resultados en el contexto de otras evidencias, y las implicaciones para la investigación futuras..	15-19
FINANCIACIÓN			
Financiación	27	Describir las fuentes de financiación para la revisión sistemática y otro tipo de apoyo (por ejemplo, el suministro de los datos); Papel de los financiadores de la revisión sistemática.	NA

Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(6): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097