

Estudios Clínicos de Fase III para la Evaluación de Vacunas

M. TERESA VALENZUELA B.

Estudios Clínicos de Fase III para la Evaluación de Vacunas

M. Teresa Valenzuela B., MD, MSc, MSP

Profesora titular, Vicedecana de Investigación y Postgrado, Directora de Magister en Epidemiología, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Chile

Introducción

El siguiente capítulo aborda la forma en que un investigador o un profesional responsable de la calidad de un ensayo clínico puede responder acerca de la eficacia y la inocuidad de una vacuna experimental. El diseño por excelencia es el ensayo clínico controlado aleatorizado, con doble enmascaramiento, en que un grupo del estudio recibe la vacuna experimental y el otro grupo recibe el placebo o grupo de control. Se analizan varios aspectos metodológicos, cómo estructurar una hipótesis nula, cómo seleccionar la población de estudio, la importancia y los métodos de aleatorización para evitar sesgos.

Dado que es muy difícil incorporar en el experimento toda la población objetivo del estudio, se explica cómo calcular un tamaño de muestra y la función importante del investigador para definir la magnitud del efecto previsto con la vacuna en estudio, el nivel de significación y la potencia. Se presenta la forma de medir los resultados, cómo analizarlos y cómo interpretarlos ya sea por intención de tratamiento (ITT) o por análisis de acuerdo a protocolo (APP). Uno de los pilares fundamentales de un estudio clínico es la ética de la Investigación en seres humanos, por lo que se incluye un acápite especial para explicar los principios generales para conducir una investigación y la importancia del consentimiento fundamentado. Por último, se exponen las pautas para diseñar estudios clínicos y las pautas para evaluar la calidad de éstos.

Generalidades

Según la asignación de la exposición, los estudios epidemiológicos se clasifican en dos tipos: observacionales y experimentales. Dentro de los primeros se encuentran los estudios descriptivos y los analíticos; éstos últimos, son los que se realizan para comprobar una hipótesis y establecer comparaciones entre distintos grupos¹.

Los estudios experimentales son aquellos en que el factor de estudio es controlado por el equipo investigador y tienen por objetivo evaluar la inocuidad, la eficacia, la dosis óptima de uno o más fármacos, dispositivos médicos o técnicas con fines diagnósticos, terapéuticos o profilácticos, de acuerdo a criterios de elegibilidad, cuyos efectos pueden evidenciar efectos favorables y no favorables para los individuos. Este diseño implica que los requisitos éticos de la investigación en seres humanos cumplen un rol trascendental en la ejecución de éstos.

Dentro de los estudios experimentales, el diseño más importante, es el ensayo clínico aleatorizado (ECA).

Las fases de un estudio clínicos van de I a IV. La fase I constituye la primera etapa de un estudio experimental en seres humanos y evalúa la dosis, la inmunogenia y la vía de administración. Se realiza en sujetos sanos y se requiere de alrededor de 100 sujetos. La fase II también se realiza en voluntarios, alrededor de 300 a 500 sujetos, y se estudia en ellos la respuesta inmunitaria y la inocuidad del producto.

Los estudios clínicos de fase III presentan características comunes:

1. Son prospectivos,
2. Cerrados, es decir que utilizan técnicas de ciego o enmascaramiento,
3. El investigador se plantea una hipótesis de investigación con un objetivo bien definido,
4. El desenlace de un ensayo para demostrar la eficacia protectora de una vacuna depende de la definición del caso y de la sensibilidad y especificidad para la detección de casos y los métodos de confirmación de ellos²;
5. Se realizan para evaluar la eficacia y la inocuidad de la intervención,
6. Son estudios controlados y aleatorizados,
7. Constituyen la última fase de la investigación clínica antes de que el producto sea registrado por la Autoridad Regulatoria y autorizado para su comercialización; por lo tanto, las condiciones en las cuales se realizan deben intentar reproducir las condiciones de uso habitual del medicamento o producto en estudio,
8. Se realizan en una muestra cuyo tamaño es calculado para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre la terapia en estudio y el placebo³.

Los estudios de fase IV se ejecutan después de que las Autoridades Farmacéuticas Regulatoras (PRA, por sus siglas en inglés) nacionales hayan aprobado su distribución o comercialización. Toda vez que una vacuna ha sido registrada y se encuentra en uso, la farmacovigilancia es fundamental para mantener permanentemente información sobre su inocuidad para la población. También estos estudios se realizan cuando se quiere establecer una nueva indicación clínica.

Consideraciones metodológicas

Todo ensayo clínico se inicia para responder a una pregunta acerca de la eficacia y la inocuidad de una vacuna y requiere de una planificación minuciosa, monitoreo permanente de la ejecución y seguimiento de sujetos para poder garantizar que esté libre de sesgos y que los resultados obtenidos sean válidos.

La pregunta de investigación es el paso más importante en el proceso de diseño y desarrollo de la investigación. Ésta debe ser:

- **Factible:** número adecuado de individuos, experiencia técnica, abordable en tiempo y financiamiento.
- **Interesante:** que permita conocer el efecto y seguridad de una vacuna que requiere ser utilizada posteriormente para solucionar un problema de salud pública.
- **Novedosa (original):** confirma o refuta hallazgos previos, proporciona nuevos resultados.
- **Ética:** los beneficios superan los perjuicios y se respetan los principios fundamentales de la investigación en humanos.
- **Relevante:** para el conocimiento científico, líneas de investigación futura o políticas clínicas y sanitarias.

A continuación se dará una explicación del significado de cada una de las características antes señaladas.

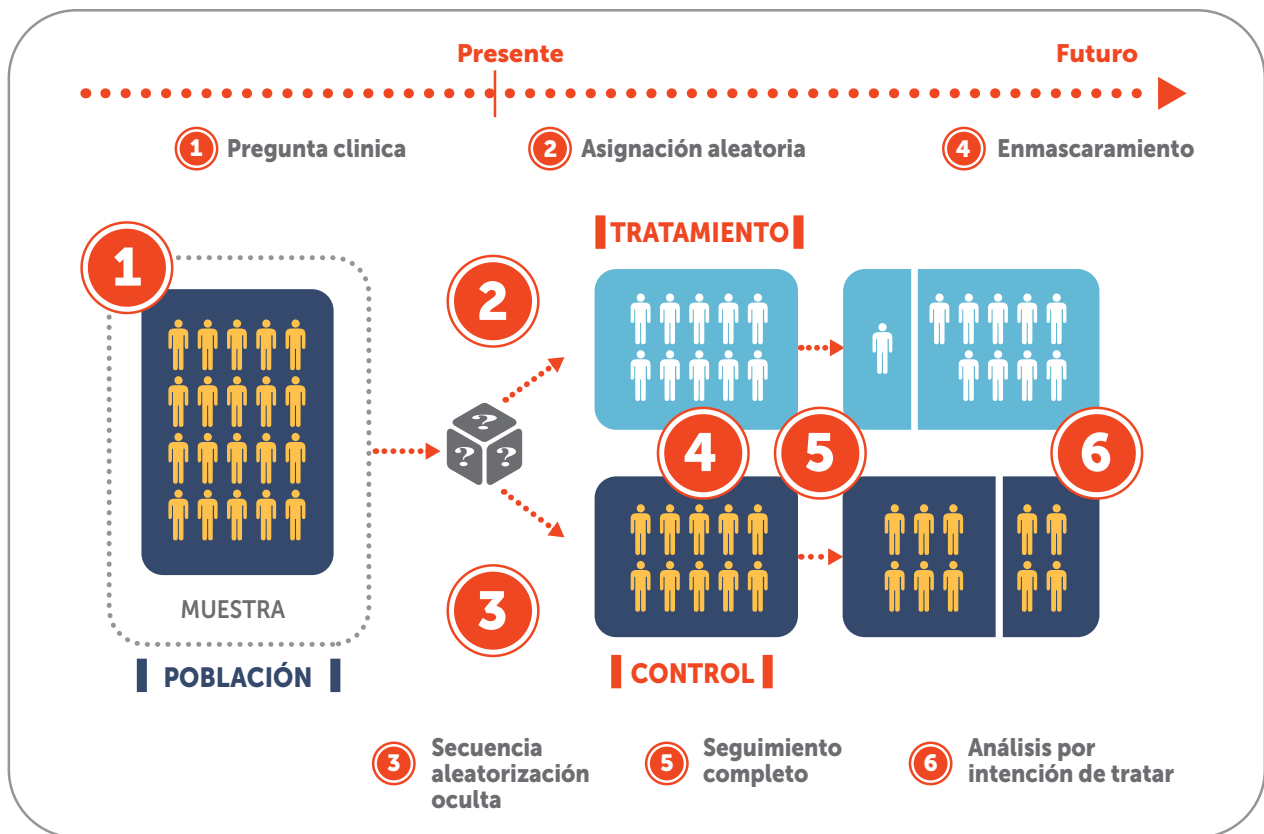
1. **Hipótesis de estudio y objetivo:** detectar a través de la investigación si la vacuna experimental es más eficaz que el placebo. La hipótesis nula planteará que el efecto de la vacuna experimental es similar al placebo.
2. **Población de estudio:** se extrae de la población frente a la cual se definen los criterios de inclusión y de exclusión. Los criterios de inclusión definen qué población podrá ser incorporada al estudio. Los estudios en vacunas preventivas deben realizarse en población sana en el grupo de edad, sexo y lugar de procedencia para el cual se indicará la vacuna, previa comprensión y firma del consentimiento fundamentado por el participante del estudio o su representante legal en el caso que sea menor de edad. Los criterios de exclusión no son la negación de los de inclusión, en general se excluyen de los estudios experimentales quienes padecen de una patología de base, embarazadas, población vulnerable, población que no podrá asistir a los controles periódicos, contraindicaciones de recibir la vacuna ya sea porque tiene antecedentes de alergia a algunos de los componentes de ésta.
3. **Estudios controlados y aleatorizados:** se refiere a que las condiciones bajo las que se realiza el estudio son controladas en todos sus ámbitos: selección de los sujetos, forma de almacenar y administrar el medicamento, los registros de todas las variables y parámetros que pueden influir en el estudio, la forma de medir los resultados. Al menos cuentan con dos grupos o ramas de investigación, el grupo en estudio (vacuna experimental) y un grupo control (placebo, se le otorgará la mejor terapia demostrada disponible, puede ser una vacuna cuya eficacia ya ha sido demostrada)⁴. La aleatorización en ambos grupos busca que cada sujeto que ingresa al estudio se distribuya al azar en uno u otro brazo, de manera de lograr una distribución equilibrada de las características demográficas de la población en estudio; la aleatorización busca que los grupos sean lo más homogéneos posibles y que sólo difieran en la intervención que se va a estudiar, evitando así los sesgos de selección.

Existen técnicas estadísticas de aleatorización:

- **Asignación aleatoria simple:** es la manera más simple de realizar la asignación aleatoria a la intervención; utiliza como herramienta base la tabla o serie de números aleatorios que para evitar cualquier tipo de sesgo en esta maniobra, cuando sea posible, debe ser generada con ayuda de un computador y la persona a cargo de realizarla, debe ser ajeno al equipo que realiza el reclutamiento y seguimiento de los participantes en el estudio. En muestras pequeñas, el empleo de este método puede generar desbalances en el número de sujetos asignado a cada grupo. Otro inconveniente que debe tenerse en cuenta, es que en ocasiones pueden producirse secuencias repetidas de una misma intervención⁵.
- **Asignación por bloques:** este método surge para contrarrestar los inconvenientes que pueden ocurrir con la asignación aleatoria simple. Consiste en una serie de bloques formados por celdas en las que están incluidas en número balanceado las alternativas de intervención; el número de bloques a utilizar depende del número de pacientes que se asignarán a una intervención, así, número de bloques=número de pacientes/número de celdas por bloque. El número de uso de cada bloque, está determinado por la tabla de números aleatorios y la asignación se va haciendo paciente a paciente, siguiendo el orden obtenido. El inconveniente de este método es que no permite equilibrar las posibles variables modificadoras del efecto o factores de confusión.
- **Asignación en conglomerados:** es un método de aleatorización simple o en bloques, en el que la unidad de asignación es el grupo y no el individuo. Es importante hacer en este método, el cálculo del coeficiente de correlación intraclase (ρ) para medir el grado de similitud de respuesta de los integrantes del grupo; un ρ positivo indica que la variación en las observaciones entre distintos grupos excede a la variación dentro de los mismos.

- 4. Enmascaramiento o ciego:** procedimientos realizados con el fin de que los sujetos que forman parte del estudio, no conozcan el tratamiento que reciben, para evitar así el sesgo del observador y por ende no puedan influir en la respuesta. Los tipos de ciego son:
- *Enmascaramiento simple:* cuando los participantes desconocen que intervención es la que recibe cada individuo.
 - *Enmascaramiento doble:* cuando los pacientes y los investigadores desconocen la intervención.
 - *Enmascaramiento triple:* hay otras personas que desconocen el tratamiento que recibe cada sujeto, como por ejemplo el estadístico.

Figura 1. Diseño de estudio clínico de fase III



5. Cálculo del tamaño de muestra: cuyo objetivo es poder determinar el efecto deseado (respuesta a la pregunta de investigación) con un nivel de significación estadística y potencia adecuada^{6,7}. A partir de la hipótesis el investigador deberá pronunciarse acerca de:

- La magnitud del efecto de la vacuna experimental, que se refiere a cuanto logrará disminuir la incidencia de la enfermedad respecto del grupo control o cuanto logrará disminuir las muertes (dependiendo del desenlace del estudio). Para ello es necesario disponer de información basal aportada, ya sea a través de la vigilancia epidemiológica o a través de los registros oficiales de morbilidad o mortalidad, que permitan estimar la incidencia en la población antes de hacer el estudio.
- El nivel de significación se refiere al error de tipo I (α); es el error que podemos cometer al afirmar que la diferencia entre los resultados obtenidos en el grupo experimental y el control es significativa en circunstancias que ella se debe al azar. En general este error se especifica como 0,05, o existe un 5% de probabilidad de rechazar la hipótesis nula cuando ésta es verdadera, es decir, no existe diferencia entre ambos grupos de tratamiento.
- Otra forma de entender el tamaño del error tipo I, es interpretando su complemento ($1-\alpha$), como el nivel de evidencia alcanzado que permite rechazar la hipótesis nula. Es decir, este complemento, es el nivel de certeza con el cual se rechaza la hipótesis nula.
- Potencia, ésta se obtiene de la diferencia de $1-\beta$; rechazar la hipótesis nula, cuando ésta es falsa. Su complemento, β es el error tipo II, es la probabilidad de afirmar que no hay diferencias entre los grupos del estudio en circunstancias que si las hay. Es la capacidad del estudio para poder detectar una mínima diferencia que tenga significación clínica, rechazando así la hipótesis nula cuando ésta es falsa.

Tabla 1. Errores de tipo I y tipo II

	H_0 es verdadera	H_0 es falsa
NO RECHAZAR H_0	Decisión correcta Nivel de confianza Probabilidad $p=1-\alpha$	Error tipo II Probabilidad $p=\beta$ <i>No rechazo H_0 aunque esta es falsa (-)</i>
RECHAZAR H_0	Error tipo I Nivel de significación Probabilidad $p= \alpha$ <i>Rechazo la H_0 aunque esta es verdadera</i>	Decisión correcta Poder de prueba Probabilidad $p=1-\beta$

Fuente: Adaptación de Biostatistics 2013⁸.

En la tabla 2 se sugiere que siempre que el investigador procure obtener potencia alta, el error II es el más bajo. En los estudios para determinar la eficacia vacunal, la potencia de trabajo es de 90%.

Tabla 2. Poder estadístico y errores

Potencia	Error tipo II	Interpretación
1,0	0,0	Si hay diferencias entre el grupo que recibió la vacuna experimental y el control, el 100% de las veces será detectado
0,8	0,2	Si hay efecto de la vacuna, se detectará el 80% de las veces
0,5	0,5	Si hay efecto de la vacuna, se detectará el 50% de las veces

El tamaño de muestra es importante pues implica que ésta será representativa de la población objetivo de la vacunación y por lo tanto los resultados que obtenga de la investigación podrán ser extrapolados a ella (validez externa). Existen múltiples formas de calcular un tamaño de muestra y ello va a depender de la variable del desenlace que se quiera medir. Una de ellas es el cálculo por diferencia de proporciones:

Fórmula 1. Cálculo del tamaño de muestra

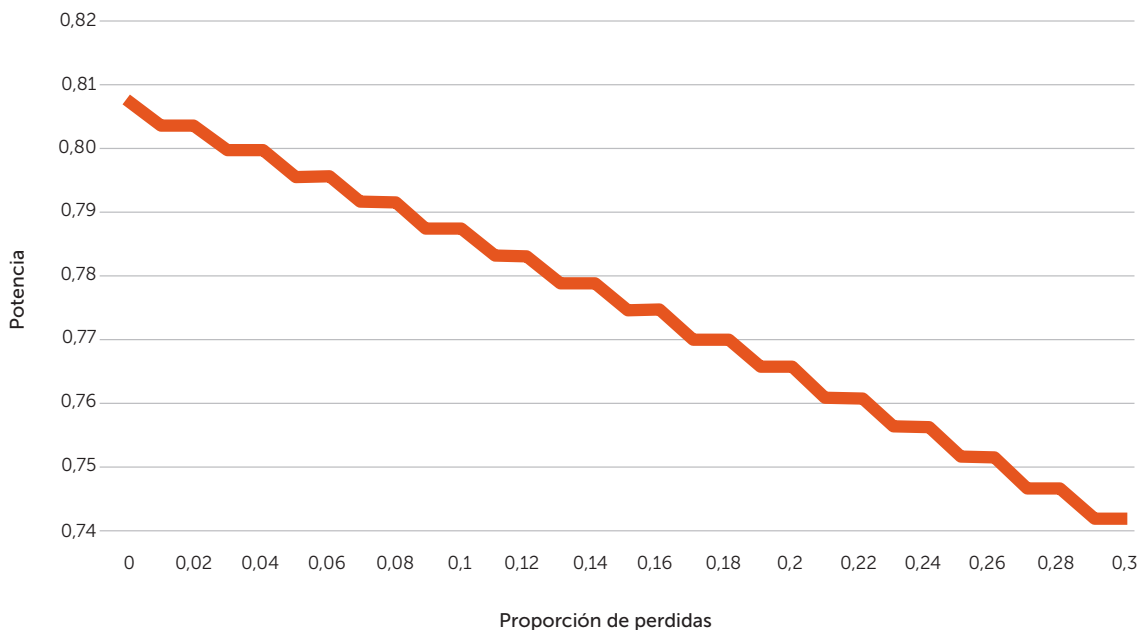
$$N = \frac{(p_1 \cdot q_1) + (p_2 \cdot q_2) \cdot f(\alpha, \beta)}{(p_2 - p_1)^2}$$

Observar que p_1 es la incidencia que se espera obtener en el grupo experimental y p_2 es la incidencia en el grupo de control.

Una vez iniciado el estudio y asignados los sujetos al grupo que indica la aleatorización, comienza el seguimiento de éste. El protocolo incluirá las estrategias de adherencia al estudio dado que los abandonos pueden significar un sesgo importante del estudio y pérdida de la potencia de la muestra, más aún si la pérdida no ocurre al azar y no se distribuye en forma homogénea en ambos grupos.

El seguimiento será por un tiempo suficiente el que considere la historia natural de la enfermedad y los antecedentes de los que se disponga acerca de la seguridad de la vacuna. El protocolo debe plantear estrategias de seguimiento para evitar las pérdidas.

En estudios poblacionales no debiese haber una pérdida mayor al 10%. Para compensar una pérdida del 10%, la muestra debiese aumentar en un 23% y si la pérdida fuese de un 20% la muestra debiese aumentar en un 56%, número que se sumará al tamaño de ésta.

Gráfico 1. Potencia contra pérdidas

Al aceptar una pérdida no superior al 5% de la potencia inicial (80%), se observa que la pérdida aceptable fluctúa entre un 10% y un 20% (Simulación propia de G Cavada y M Teresa Valenzuela). Por ello es que se considera aceptable una pérdida de hasta el 20%, bajo el supuesto que las pérdidas deben ser aleatorias respecto a las ramas de tratamiento.

Análisis de resultados

El primer análisis que se efectuará será una descripción que permita caracterizar ambas poblaciones, las que recibieron la vacuna experimental y las que recibieron placebo, de modo de asegurar la similitud de ambos grupos. A continuación se analizan los resultados que permitirán rechazar o no la hipótesis nula.

Para ello se realizan dos tipos de análisis:

- 1. Por intención de tratamiento:** en que los sujetos aleatorizados son analizados de acuerdo al tratamiento originalmente asignado. Si se excluyen sujetos después de la aleatorización se corre el riesgo de introducir sesgos. Adicionalmente se registrarán los sujetos que hayan salido del estudio y las razones de su salida; excluirlos del análisis limita la generalización de los resultados.
- 2. Análisis por protocolo:** en que los sujetos son analizados por quienes cumplieron el tratamiento, independientemente de la asignación original.

Cómo se mide la eficacia de la vacuna experimental versus la del grupo control:

Mediante la tasa de incidencia o densidad de incidencia de la enfermedad en ambos grupos. Los años sujeto se calculan sumando los años en que cada sujeto estuvo libre de la enfermedad desde que fue enrolado hasta el momento en que se enfermó dentro del período de seguimiento, así como también todo el tiempo de seguimiento de todos aquellos que no enfermaron. En base a ello se determina la tasa de incidencia en ambos grupos y se establece el porcentaje de reducción de la tasa.

El Riesgo Relativo (RR) expresa la fuerza de la asociación entre la vacunación y la disminución de la enfermedad, cuanto más se aleja el valor de RR por debajo de 1, significa que la eficacia de la vacuna es más alta⁹.

Fórmula 2. Cálculo de la eficacia vacunal

$$\text{Eficacia vacunal} = \frac{\text{Tasa de incidencia en grupo control} - \text{Tasa de incidencia en grupo vacunado}}{\text{Tasa de incidencia en grupo control}} \times 100$$

Fórmula 3. Cálculo del riesgo relativo

$$\text{Riesgo relativo} = \frac{\text{Riesgo en los expuestos a la vacuna experimental}}{\text{Riesgo en los no expuestos (control)}}$$

Si la vacuna es protectora, el valor obtenido de Riesgo Relativo será inferior a 1.

$$\text{Eficacia vacunal} = 1 - \text{RR}$$

Los valores que se obtienen son simplemente puntuales por ello se calcularán los Intervalos de Confianza 95%, (IC 95%), con ello se tendrá una medida de precisión de la estimación puntual. Los valores que caen entre el límite inferior y el superior del IC 95% incluyen el valor puntual el 95% de las veces.

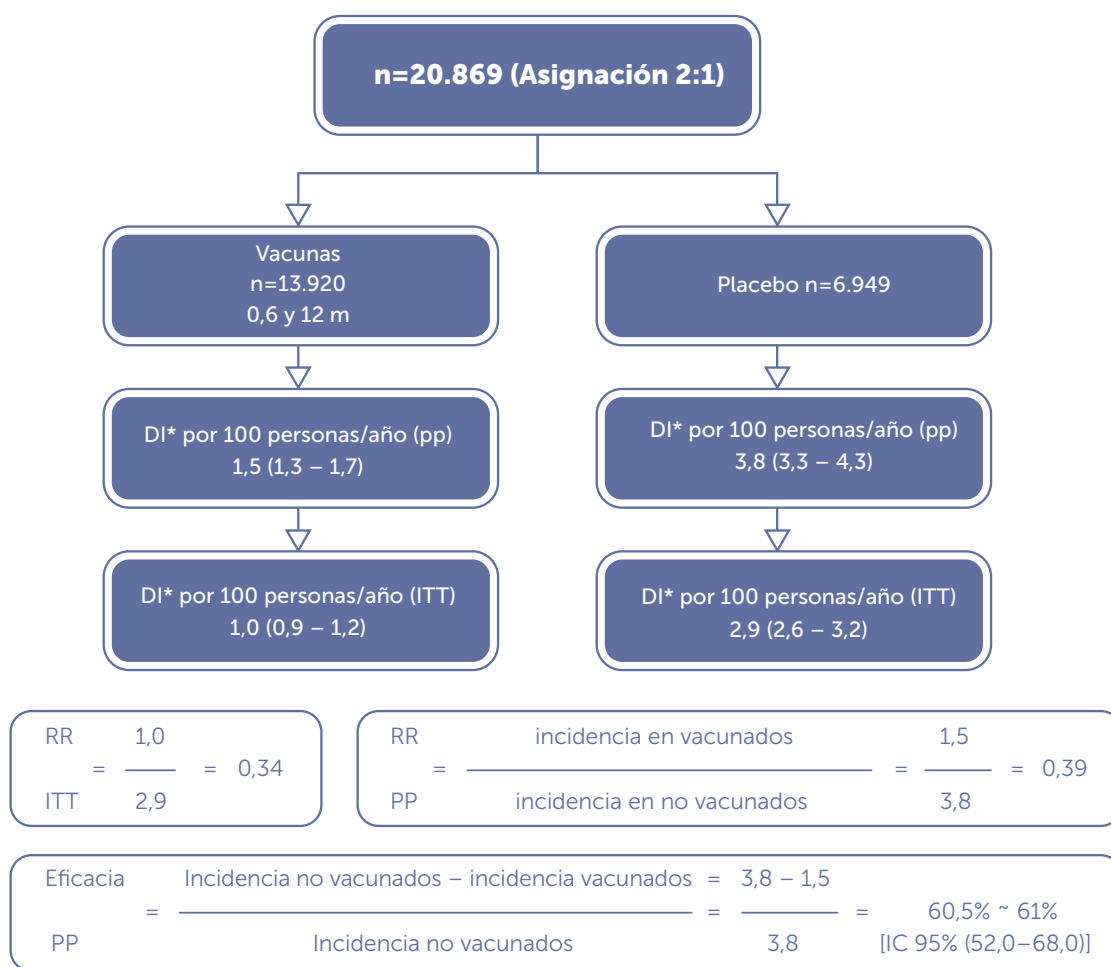
Si este IC incluye uno (1), los resultados concordarían con la hipótesis nula, es decir no existe diferencia entre los grupos estudiados, lo que se traduce en que la diferencia entre los grupos no tienen significancia estadística a un valor de α de 0,05¹⁰. A modo de ejemplo, los resultados de la eficacia de una vacuna experimental, expresada como RR es de 0,62 (IC 95%: 0,4–1,3), se interpreta que si bien el RR es inferior a 1, es decir es protector, sin embargo el rango superior del IC 95% supera 1, por lo que los hallazgos no son *estadísticamente significativos*.

A continuación se muestra un ejemplo de un Ensayo Fase III:

Ejemplo 1. Eficacia de la vacuna tetravalente contra el dengue en América Latina¹¹

20.869

20.869 niños sanos (9-16 años) son aleatorizados para recibir la vacuna o el placebo (cloruro de sodio al 0,9%) en 3 dosis a 0, 6 y 12 meses. Desenlace: medir la eficacia de la vacuna tetravalente contra el dengue confirmado virológicamente.



Eficacia vacunal en el grupo PP: $1 - RR (PP) = 61\%$

En último lugar, se debe calcular el IC 95% para el valor específico como determinante de la precisión del valor puntual. Valores que se ubican entre los límites inferiores y superiores del intervalo de confianza comprenden el valor puntual el 95% de las veces.

Fuente: Adaptación de NEJM 2015; 372:113.

Notas: DI: Densidad de incidencia o tasa de incidencia; PP: análisis por protocolo e ITT: análisis por intención de tratamiento.

Aspectos éticos

En la planificación de un estudio clínico, uno de los componentes esenciales son los principios éticos esenciales con los que se debe cumplir. Ellos son:

1. Respeto por las personas
2. Principio de beneficencia
3. Principio de justicia

El respeto por las personas significa reconocer la autonomía de ellas en la decisión a tomar respecto de su participación voluntaria en el estudio y la protección de aquellas personas con autonomía disminuida.

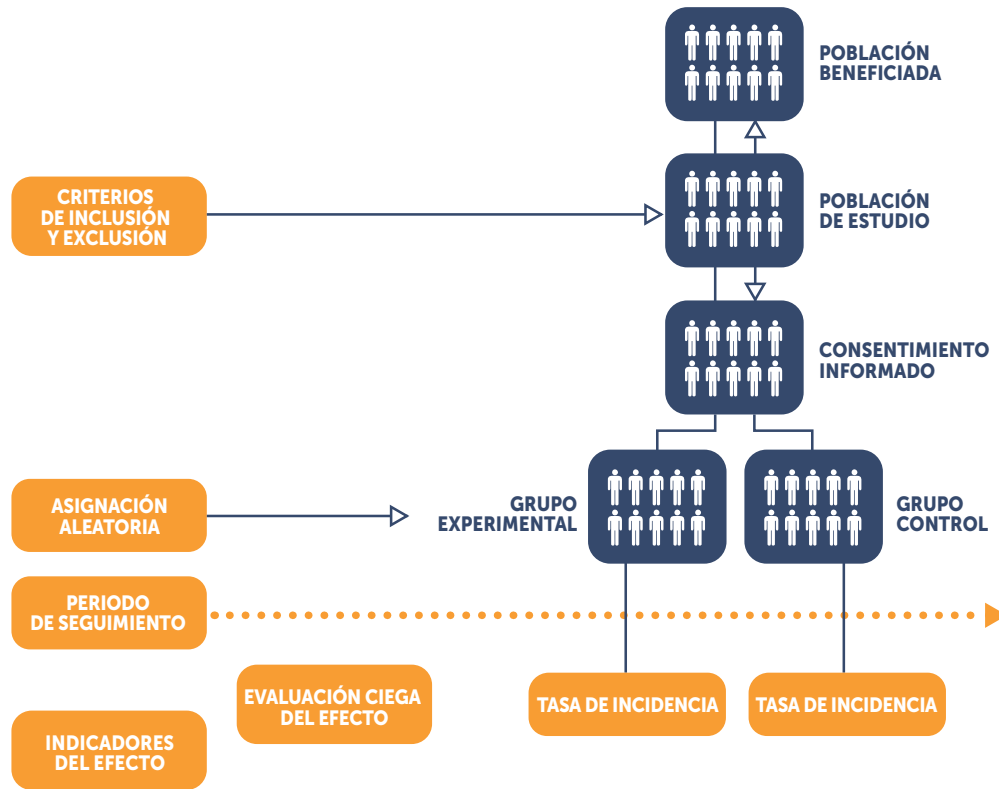
El principio de beneficencia se refiere a no dañar y a maximizar los posibles beneficios y minimizar los posibles daños.¹²

El principio de justicia implica que para la realización de un estudio no se puede elegir sistemáticamente sujetos más vulnerables, por ejemplo sujetos privados de libertad, ancianos, o que se manipule el ingreso de ellos a una investigación.

La aplicación de los principios generales para conducir una investigación exige que cada participante en un estudio de su autorización libremente mediante un consentimiento informado por escrito. Este documento contendrá en forma clara, sencilla y fácil de comprender, información acerca de los objetivos del estudio, los posibles riesgos y beneficios que se espera obtener, las vacunas que recibirá, el número de visitas que se realizarán, el tipo y número de muestras que se le tomarán.

El consentimiento informado será escrito y explicado a cada participante del estudio o a su representante legal en un lenguaje adaptado a las capacidades de comprensión de ellos, en forma tranquila, con tiempo suficiente para asegurarse que hubo comprensión y que la persona pudo hacer todas las preguntas que consideró necesarias.

El sujeto o su representante legal aceptará voluntariamente participar, sin presiones ni influencias indebidas¹³.

Figura 2. Resumen de procesos de un estudio clínico de fase III

Evaluación de ensayos clínicos

A fin de formular un ensayo clínico controlado de fase III⁶, se deben seguir las pautas a continuación (CONSORT):

1. **Título y resumen:** debe contener el método de selección de los pacientes "aleatorizado".
2. **Antecedentes científicos y razones del estudio.**
3. **Métodos:** participantes, intervenciones, objetivos, resultados, tamaño muestral, aleatorización, cegado, métodos estadísticos.
4. **Resultados:** flujo de participantes, reclutamiento, datos basales, números analizados, resultados y estimación, análisis complementarios, eventos adversos.
5. **Discusión:** interpretación, generalización, evidencia global.

Además, se recomienda analizar de forma crítica la validez de los resultados de un ensayo clínico. A fin de evaluar un ensayo clínico, se deben tener en cuenta tres preguntas principales:

1. ¿Son válidos los resultados del ensayo?
2. ¿Cuáles son los resultados?
3. ¿Pueden ayudarnos estos resultados?

Para más información, el Programa de Aptitudes Evaluatorias Críticas (CASP) ofrece una lista de verificación para analizar un ensayo controlado aleatorizado: <http://www.casp-uk.net/casp-tools-checklists>.

Referencias

1. Grimes DA, Schulz KF. An overview of clinical research: the lay of the land. *The Lancet* 2002;359(9300):57–61.
2. Halloran ME, Struchiner CJ, Longini IM. Study Designs for Evaluating Different Efficacy and Effectiveness Aspects of Vaccines. *Am J Epidemiol* 1997;146(10):789–803.
3. García AG, Juan LG. *El Ensayo Clínico En España*. Farmaindustria; 2001. http://www.farmaindustria.es/idc/groups/public/documents/publicaciones/farma_1031.pdf. Consultado el 7 de enero de 2016.
4. Madhi SA, Dangor Z, Heath PT, et al. Considerations for a phase-III trial to evaluate a group B Streptococcus polysaccharide-protein conjugate vaccine in pregnant women for the prevention of early- and late-onset invasive disease in young-infants. *Vaccine* 2013;31:D52–D57. doi:10.1016/j.vaccine.2013.02.029.
5. Lazcano-Ponce E, Salazar-Martínez E, Gutiérrez-Castrellón P, Angeles-Llerenas A, Hernández-Garduño A, Viramontes JL. Ensayos clínicos aleatorizados: variantes, métodos de aleatorización, análisis, consideraciones éticas y regulación. *Salud Pública México* 2004;46(6):559–584.
6. Cobos-Carbó, Albert. Ensayos clínicos aleatorizados. *Med Clin (Barc)* 124:21–27.
7. Soldevila N, Salleras L. Cálculo del tamaño de la muestra en los estudios epidemiológicos de evaluación de la efectividad vacunal. *Vacunas* 2011;12(3):102–105.
8. *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. 10 edition. Wiley; 2013.
9. Ruiz Morales Álvaro. *Epidemiología clínica: investigación clínica aplicada*. Bogotá, Col.; Madrid, España: Mdica Panamericana; 2004.
10. Arístegui Fernández J. *Vacunaciones en el niño: de la teoría a la práctica*. [Madrid: Ciclo; 2004.
11. Villar L, Dayan GH, Arredondo-García JL, et al. Efficacy of a Tetravalent Dengue Vaccine in Children in Latin America. *N Engl J Med* 2015;372(2):113–123. doi:10.1056/NEJMoa1411037.
12. White A, Madhi SA. Ethical considerations for designing GBS maternal vaccine efficacy trials in low-middle income countries. *Vaccine* 2015;33(47):6396–6400. doi:10.1016/j.vaccine.2015.07.108.
13. López PP, Mena CR. Legislación vigente y Ética en Investigación Clínica. *Rev Int Cienc Podol* 2012;6(2):81–93.
14. Valenzuela MT, Urquidí C, Martínez C. Manual para la Estandarización de Estudios Clínicos en Chile: desde la concepción hasta la publicación. Disponible en: <http://ensayosclinicos.ispch.gob.cl/>.