

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

**SUBDIRECCIÓN DE EPIDEMIOLOGÍA**

**APORTES A LA EVALUACIÓN DE LA VACUNA  
RECOMBINANTE CUBANA CONTRA LA HEPATITIS B**

**TESIS PRESENTADA EN OPCIÓN AL GRADO CIENTÍFICO  
DE DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS**



***Autor: Dr. Plácido Pedroso Flaquet  
Asesores: Prof. Antonio Pérez Rodríguez Dr. C.  
Dra. Licel de los Angeles Rodríguez Lay Dr. C.  
Dra. Verena Muzio González Dr. C.***

**Ciudad de La Habana  
2009**

## ***AGRADECIMIENTOS***

Mi infinito y eterno agradecimiento a mi madre, que ha luchado fuerte para que hoy pueda sentir que he sido útil en la vida. ¡Muchas gracias mi querida madre, por todo lo que has hecho por mi, no tengo con qué pagarte!

Mi infinito y eterno agradecimiento a mi padre que aunque ya se fue hace 20 años, todos los días lo recuerdo con cariño por su esfuerzo, tenacidad en la vida y por habernos guiado por el camino del saber y el conocimiento, elementos precursores para llegar hasta aquí .

Deseo agradecer además, a todas aquellas personas que a través de mi vida han contribuido de forma desinteresada a mi formación cultural, docente, científica y como ser humano honesto, sin su ayuda no hubiese sido posible llegar hasta aquí.

A mis queridas maestras de primaria Juana Rosa Torres y Maria Antonia Herrera a las que jamás olvidaré y las recuerdo con infinito cariño.

De forma especial agradezco la culminación de este trabajo científico a:

- Dr. Manuel Díaz González por haberme propiciado trabajar en la apasionante temática de las hepatitis virales, la evaluación de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B y sus combinaciones durante 18 años. Además por haber confiado en mí para el desarrollo de importantes actividades científico técnicas durante 18 años.
- Dr. Antonio Pérez Rodríguez, por su colaboración, sabios consejos, valiosa ayuda, asesoría y la dedicación de parte de su valioso tiempo en las revisiones de los manuscritos, para que este trabajo quedara lo mejor posible y pudiera culminar exitosamente esta tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Médicas. ¡Muchas gracias y muy agradecido, Antonio!
- Dra. Licel de los Angeles Rodríguez Lay, por su colaboración, sabios consejos, valiosa ayuda, asesoría y la dedicación de parte de su valioso tiempo en las revisiones de los manuscritos, para que este trabajo quedara lo mejor posible y pudiera culminar exitosamente esta tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Médicas. ¡Muchas gracias y muy agradecido, Licel!

- Dra. Verena Muzio González, por su colaboración, sabios consejos, valiosa ayuda, asesoría y la dedicación de parte de su valioso tiempo en las revisiones de los manuscritos, para que este trabajo quedara lo mejor posible y pudiera culminar exitosamente esta tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Médicas. ¡Muchas gracias y muy agradecido, Verena!
- Los profesionales y técnicos del Laboratorio Nacional de Referencia de Hepatitis Virales del IPK.
- Lic. Alberto Baly Gil por la colaboración en la estadística de los estudios desde hace 18 años
- Dra. María Caridad Montalvo Villalba por su ayuda en la bibliografía relacionada con la hepatitis B y en los aspectos relacionados con la inmunología del virus de la hepatitis B.
- Lic. Armando Martínez por sus sugerencias y valiosa revisión de la bibliografía de la tesis.
- Lázaro González por la ayuda en la encuadernación de los documentos de la tesis y por siempre decir ¡sí se puede!
- Dr. Luis Rivera Reimón, por su valiosa revisión de los aspectos clínicos de la hepatitis B y por sus valiosos consejos.
- Las amables muchachas de la biblioteca del IPK Idania y Cary
- Los trabajadores, enfermeras, médicos, directores y niños de los Hogares de Impedidos Físicos y Mentales Edad de Oro V y Edad de Oro VII; del Hogar de ancianos Juan Lefont; del Centro Municipal de Higiene y Epidemiología del Cerro; de la Escuela de Enfermería y Politécnico de la Salud del municipio Cerro; de la Escuela de Cadetes de Barbosa del municipio La Lisa y a diferentes Instituciones Educativas, Científicas y de Salud de la Ciudad de la Habana y del resto del país, de donde se reclutaron muchos de los seres humanos para las investigaciones sobre la vacuna cubana contra la hepatitis B. Un agradecimiento especial a los padres y tutores de los niños de todo el país que participaron en los estudios.

- Dra. María Eugenia Toledo Romaní por toda la ayuda prestada en el mejoramiento de la tesis.
- Dra. Milvia Matienzo Diviño, por su colaboración en la revisión de parte del documento.
- A los Dres Sonia Resik Aguirre y Armando Acosta Dominguez por las magníficas oponencias realizadas en la predefensa para el mejoramiento del documento final de la tesis doctoral
- Lic. Maribel Chao por la atención en el proceso de doctorado
- Todos los científicos y personal de apoyo del CIGB que trabajaron altruistamente para lograr tan maravilloso producto vacunal.

¡A todos! ¡Eterno agradecimiento! ¡Y disculpas si olvidé inmerecidamente a alguien!

*A mi querida madre Lili, a mi hijo Ali y a mi padre Delfín Gregorio*

## ***SÍNTESIS***

La infección por el virus de la hepatitis B (VHB) aún constituye una seria amenaza para la salud mundial. Se estima que este virus ha infectado a más de 2000 millones de personas y que existen más de 350 millones de portadores del VHB en el mundo y de éstos, aproximadamente el 25% puede morir por enfermedades hepáticas crónicas o por sus complicaciones. En 1991 el MINSAP le encomendó al IPK, la continuación de los estudios clínicos de la vacuna cubana contra la hepatitis B Heberbiovac HB producida por el CIGB, con el objetivo de proseguir su evaluación. La inmunogenicidad de la vacuna cubana fue elevada y superior a la de la vacuna plasmática en el estudio comparativo e incrementó considerablemente la respuesta inmune en primovacunados con dicha vacuna plasmática; la eficacia protectora fue del 100% hasta los 14 años después del comienzo de la vacunación en impedidos físicos y mentales y se comprobó la elevada efectividad en niños hijos de madres positivas al antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y en niños cubanos de 1 a 5 años de edad. Los resultados alcanzados fueron satisfactorios y similares a los logrados con las mejores vacunas de su tipo disponibles en el momento de la realización de los estudios y contribuyeron al incremento de su aval científico y al mejoramiento de la salud de la población cubana.

## **INDICE**

	<b>Pág</b>
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN</b>	1
1.1. Antecedentes	1
1.2. Hipótesis de trabajo.	2
1.3. Objetivos.	3
1.4. Novedad científica	3
1.5. Valor teórico.	4
1.6. Valor práctico.y social	5
<b>CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	6
2.1. Hepatitis viral. Concepto y Clasificación	6
2.2. Historia de la hepatitis B	6
2.3. Agente infeccioso	7
2.3.1. Clasificación y estructura del virus de la hepatitis B	7
2.3.2. Algunas propiedades físico-químicas	9
2.4. La hepatitis B	9
2.4.1. Manifestaciones clínicas	9
2.4.2. Patogénesis	12
2.4.3. Patología	13
2.4.4. Algunos aspectos inmunológicos de importancia	14
2.4.5. Diagnóstico	16
2.4.5.1. Laboratorio clínico	16
2.4.5.2. Viroológico	17
2.4.6. Tratamiento	21
2.5. Epidemiología de la hepatitis B	22
2.5.1. Epidemiología molecular de la hepatitis B	24
2.5.2. Situación mundial de la hepatitis B	25
2.5.3. Prevención y control	27
2.5.4. Vigilancia de la hepatitis B	29
2.6. Vacunas contra la hepatitis B	31
<b>CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	36
3.1. Deontología médica	36
3.1.1. Aprobación de los Comités de Ética Médica y de Revisión	36
3.1.2. Consideraciones Éticas Generales con relación a los estudios	36
3.1.3. Reacciones adversas, preparación para enfrentarlas y medidas que se tomaron para garantizar la seguridad en la manipulación del producto	38

<b>3.2.</b>	<b>Concepción general de los estudios</b>	<b>38</b>
<b>3.2.1.</b>	<b>Aspectos generales de los estudios</b>	<b>38</b>
<b>3.2.2.</b>	<b>Tipos, diseños y grupos de estudios</b>	<b>38</b>
<b>3.2.3.</b>	<b>Tipos y principales características de los diferentes estudios</b>	<b>39</b>
<b>3.3.</b>	<b>Selección de los sujetos</b>	<b>44</b>
<b>3.3.1.</b>	<b>Criterios de inclusión</b>	<b>44</b>
<b>3.3.2.</b>	<b>Criterios de exclusión</b>	<b>44</b>
<b>3.3.3.</b>	<b>Criterios de salida de los estudios después de la inclusión.</b>	<b>45</b>
<b>3.3.4.</b>	<b>Cálculo del tamaño de muestra y descripción de los métodos de aleatorización</b>	
<b>3.4.</b>	<b>Vacunación</b>	<b>46</b>
<b>3.4.1.</b>	<b>Esquemas de vacunación utilizados según los estudios</b>	<b>46</b>
<b>3.4.2.</b>	<b>Productos vacunales utilizados según los estudios</b>	<b>46</b>
<b>3.4.3.</b>	<b>Vía de administración, dosis, frecuencia y duración de la Vacunación</b>	<b>46</b>
<b>3.4.4.</b>	<b>Medidas que se tomaron para el control del cumplimiento de la vacunación</b>	<b>47</b>
<b>3.4.5.</b>	<b>Causas de interrupción de la vacunación.</b>	<b>47</b>
<b>3.4.6.</b>	<b>Reglas para el uso de tratamientos concomitantes</b>	<b>47</b>
<b>3.5.</b>	<b>Evaluación de la inmunogenicidad</b>	<b>47</b>
<b>3.5.1.</b>	<b>Principales variables independientes</b>	<b>47</b>
<b>3.5.2.</b>	<b>Principales variables dependientes</b>	<b>48</b>
<b>3.5.3.</b>	<b>Parámetros a utilizar para medir los efectos del inmunógeno</b>	<b>48</b>
<b>3.5.4.</b>	<b>Toma y procesamiento de las muestras y periodicidad de las mediciones</b>	<b>48</b>
<b>3.5.5.</b>	<b>Descripción de las pruebas especiales a emplear para el diagnóstico virológico de antígenos y anticuerpos de la hepatitis B de los estudios</b>	<b>49</b>
<b>3.5.5.1.</b>	<b>Pruebas especiales para la detección del HBsAg y anti-HBs producidos por la casa comercial Organón Teknika, Holanda</b>	<b>49</b>
<b>3.5.5.2.</b>	<b>Pruebas especiales para la detección del HBsAg y anti-HBs producidos por el Centro de Inmunoensayo de la Habana, Cuba</b>	<b>50</b>
<b>3.5.5.3.</b>	<b>Estudios donde se emplearon estuches diagnósticos de la casa comercial Organón Teknika, Holanda, para la detección de HBsAg y para cuantificación de anti-HBs</b>	<b>52</b>



3.5.5.4. Estudios donde se emplearon estuches diagnósticos del Centro de Inmunoensayo para la detección de HBsAg y para la cuantificación de anti-HBs	52
3.6. Procedimiento para recolección y manejo de la información	52
3.7. Procesamiento de la información	53
3.8. Estadística	53
3.9. Conservación de la información	55
<b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS</b>	56
4.1. Estudios de inmunogenicidad (Fase II de evaluación de vacunas)	56
4.1.1. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños pre-escolares; escolares de primaria y de secundaria básica	56
4.1.2. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en ancianos.	58
4.1.3. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños escolares de 6 a 9 años de edad	59
4.1.4. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en adultos jóvenes	61
4.1.5. Comparación de la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B con la obtenida con una vacuna plasmática en adultos sanos.	63
4.2. Estudios de Eficacia protectora (Fase III de evaluación de vacunas)	66
4.2.1. Eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños impedidos físicos y mentales. Seguimiento hasta 14 años después del comienzo de la vacunación	66
4.3. Estudios de Efectividad (Fase IV de evaluación de vacunas)	69
4.3.1. Efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al HBsAg	69
4.3.2. Seroprevalencia de los títulos de anticuerpos contra el virus de la hepatitis B en niños cubanos de 1 a 5 años de edad	71
<b>CAPÍTULO V. DISCUSIÓN</b>	74
<b>CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES</b>	99
<b>CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES</b>	100
<b>CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	101

<b><i>CAPITULO IX. BIBLIOGRAFÍA DEL AUTOR</i></b>	119
<b>9.1.</b> Autobiografía del autor.	119
<b>9.2.</b> Autobiografía del autor relacionada con el tema de tesis	120
<b>9.3.</b> Distinciones científico técnicas.relacionadas con el tema de tesis	120
<b>9.4.</b> Eventos científicos donde han sido presentados los resultados de la tesis	121
<b><i>CAPÍTULO X. ANEXOS</i></b>	124

## ***CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN***

### **1.1. Antecedentes**

La infección por el virus de la hepatitis B (VHB) aún constituye un serio problema de salud a nivel mundial (Mumtaz y Siddiq, 2008). Estimados globales señalan que este virus ha infectado a más de 2000 millones de personas, y que existen más de 350 millones de portadores del VHB en el mundo, de los cuales aproximadamente el 25% se espera que mueran de enfermedades crónicas del hígado, cirrosis o carcinoma hepatocelular primario. Cada año aproximadamente un millón de personas fallecen por secuelas agudas o crónicas provocadas por este agente causal y se producen más de cuatro millones de casos clínicos agudos, considerándosele una de las mayores causas de morbimortalidad por enfermedades infecciosas a nivel global (Jacques et al., 2002; OPS, 2005; Mumtaz y Siddiq, 2008).

Aunque se ha avanzado en la generación de antivirales a partir del conocimiento y estudio de la pandemia provocada por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (VIH-1), las armas terapéuticas para la erradicación del VHB son aún insuficientes (Cinza et al., 2007). En la actualidad no existe además ningún tratamiento para el estado de portador, siendo la prevención el único medio efectivo de combatir este terrible mal, lo cual se puede lograr de forma transitoria con la administración pasiva de inmunoglobulina específica contra la hepatitis B (IgHB) o por medio de la vacunación específica en más del 90% de las personas vacunadas (WHO, 2004; CDC, 2007; Cinza et al., 2007). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado el uso masivo de vacunas anti-hepatitis B con el objetivo a largo plazo de eliminar la enfermedad y si las estrategias se trazan adecuadamente, esto debe conducir a la eliminación de la enfermedad y sus secuelas (Mumtaz y Siddiq, 2008)

En Cuba, en la década de los años ochenta, la hepatitis B constituía un importante problema de salud, por lo que se decide trabajar con el propósito de producir una vacuna para establecer un programa masivo de vacunación como lo preconizaba la OMS, con el objetivo de prevenir y controlar la enfermedad. Aunque en nuestro país no se escatiman esfuerzos para mejorar la salud de la población, la adquisición de la vacuna a gran escala hubiese sido un esfuerzo económico muy grande, teniendo en cuenta los costos que tenía la misma en esos momentos. Esta decisión resultó un gran reto científico para el Centro

de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) de la Habana, que logró elaborar un producto vacunal por métodos recombinantes, cuya evaluación comenzó en el año 1989 con la aplicación del candidato vacunal en adultos para medir su seguridad e inmunogenicidad (Galbán, y Bravo, 1991). A partir de esos estudios era necesario realizar otros en diferentes grupos específicos, que permitieran el completo conocimiento de la vacuna. En este contexto, científicos de varias instituciones condujeron diferentes estudios, tanto en Cuba como en el extranjero y a partir del año 1991, el Ministerio de Salud Pública de Cuba (MINSAP) le encomendó al Instituto de Medicina Tropical (IPK) la continuación de la evaluación de la vacuna cubana recombinante cubana contra la hepatitis B (Heberbiovac HB), por lo que se iniciaron diferentes ensayos clínicos con la vacuna cubana con la finalidad de responder a las siguientes interrogantes:

- ¿Cuáles serán las características inmunogénicas de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en diferentes grupos específicos y a diferentes dosis?
- ¿Cuál será inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B al compararla con la obtenida con una vacuna plasmática? y ¿Cual será el efecto de una dosis de refuerzo de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en adultos primovacunados con la vacuna plasmática?
- ¿Cuál será la eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños impedidos físicos y mentales?
- ¿Cuál será la efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y en niños cubanos de 1 a 5 años de edad?

Ante estas preguntas planteamos la siguiente hipótesis de trabajo:

## **I.2. Hipótesis de trabajo.**

La vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B es inmunogénica para grupos específicos y garantiza una adecuada eficacia protectora y efectividad en la prevención de la hepatitis B.

Para demostrar esta hipótesis nos planteamos los siguientes objetivos:

### **1.3. Objetivos.**

#### **General:**

Evaluar la inmunogenicidad, la eficacia protectora y la efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en diferentes grupos específicos.

#### **Específicos**

- Evaluar la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en diferentes grupos específicos y a diferentes dosis.
- Comparar la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B con la obtenida con una vacuna plasmática en adultos sanos
- Determinar el efecto de una dosis de refuerzo de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en adultos primovacunados con la vacuna plasmática.
- Determinar la eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños impedidos físicos y mentales
- Evaluar la efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y en niños cubanos de 1 a 5 años de edad.

### **1.4. Novedad científica.**

Estos son de los primeros estudios de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B realizados en Cuba, en los cuales se obtienen resultados de inmunogenicidad en los diferentes grupos de seres humanos estudiados, y son similares a los obtenidos con las mejores vacunas de su tipo en el mundo. Es la primera vez que se emplea en ancianos y se obtienen altos porcentajes de seroprotección. La aplicación de sólo dos dosis de vacuna, fue capaz de generar elevados niveles de anticuerpos protectores. Es importante destacar además, que en niños y adultos se obtuvieron respuestas inmunológicas elevadas y similares, al comparar las dosis de antígeno de vacuna Heberbiovac HB recomendadas por el productor con dosis de antígeno inferiores a éstas. La inmunogenicidad de la vacuna cubana fue superior a la de la vacuna plasmática empleada en el estudio comparativo, además, con una dosis de refuerzo, fue capaz de incrementar considerablemente la respuesta inmune (porcentaje de seroprotección: títulos de anti-HBs $\geq$ 10 UI/L); (títulos de anti-HBs $\geq$ 100 UI/L) y media geométrica de los títulos de anticuerpos: MGT) en sujetos primovacunados con la vacuna plasmática.

Se evidenció la elevada eficacia protectora a largo plazo, de este novedoso producto en grupos de alto riesgo a la infección por el VHB como son los niños impedidos físicos y mentales, resultados obtenidos por primera vez en nuestro país para esta vacuna.

Se determinó la elevada efectividad de la vacuna en niños hijos de madres positivas al antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg, siglas del inglés, hepatitis B surface antigen), resultados obtenidos por primera vez para este producto vacunal en las condiciones del Programa Nacional de Inmunizaciones (PNI) constituyendo el mayor merito de estos hallazgos en que la vacuna se administró sola, sin la inoculación simultánea de Inmunoglobulina específica contra la hepatitis B (IgHB).

El estudio de seroprevalencia de títulos de anticuerpos contra el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (anti-HBs siglas del inglés antibody to hepatitis B surface antigen) en niños cubanos de 1 a 5 años de edad, fue el primer gran estudio poblacional de esta vacuna, el cual permitió comprobar, por primera vez, el elevado estado de protección en que se encontraban los niños cubanos de 1 a 5 años de edad.

Estos hallazgos contribuyeron al incremento del aval científico de la vacuna y a que fuese el primer producto biotecnológico cubano que se presenta y es certificado por la OMS lo que desde el punto de vista científico fue un gran logro de la biotecnología cubana.

Por primera vez se dispuso en el mundo, de resultados de caracterización de la respuesta inmune de una vacuna contra la hepatitis B, donde el HBsAg se había obtenido en la levadura *Pichia pastoris* a diferencia de las vacunas disponibles en ese momento en el mercado que eran obtenidas en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*

### **1.5. Valor teórico**

Estos resultados hicieron posible contar con una vacuna con resultados inmunogénicos, de eficacia protectora y efectividad comprobadamente satisfactorios para uso profiláctico en humanos. Los estudios realizados aportan nuevos conocimientos científicos para enriquecer el registro sanitario nacional e internacional de esta vacuna reconocida ya en 40 países del mundo.

Han sido objeto de nueve publicaciones nacionales e internacionales, de dos trabajos de terminación de Maestría, de ocho proyectos de investigaciones y han sido presentados en 17 eventos científicos nacionales e internacionales.

Los resultados que se presentan en esta tesis han sido objeto de múltiples reconocimientos y premios entre los que se destacan cuatro Resultados Relevantes del IPK (1992, 1993, 1995, 1997); un Resultado Relevante del CIGB (1999); tres Premios del Forum Nacional de Ciencia y Técnica (1994, 1998, 2001) y un Premio del Forum Provincial de Ciencia y Técnica (1998); La Distinción Especial del Forum Nacional de Ciencia y Técnica (2001); Premio de la Academia de Ciencias de Cuba (2001); Reconocimiento como Autor principal de los cinco mejores trabajos del Premio "Francisco Javier de Balmis" del VII Congreso Latinoamericano de Infectología Pediátrica, Venezuela (1997); Primer Premio de la Filial cubana de la Sociedad Latinoamericana de Infectología Pediátrica (2001). Trabajo finalista de la Bienal de Pediatría, Bogotá, Colombia, 2004. Los resultados contribuyeron además a que en el CIGB se obtuviera la primera vacuna combinada cubana tetravalente (Trivac-HB) en los que el IPK también participó en el primer gran estudio clínico de este producto

### **1.6. Valor práctico y social**

Estos estudios coadyuvaron a que a partir del 1992 la vacuna se incluyera en el PNI para todos los recién nacidos del país y se implementara la vacunación a diferentes grupos poblacionales y de riesgo, y ya en el 2008 se habían vacunado más de cuatro millones de cubanos y la población menor de 27 años quedó vacunada contra la hepatitis B, todo lo cual permitió interrumpir la transmisión de la hepatitis B aguda en niños menores de 15 años a partir del año 2000, además se ha observado una drástica reducción de la incidencia en población general al reportarse solamente 15 casos en el 2008 en el país (tasa  $0,1 \times 10^5$  habitantes) (Anexo 1). Con estas acciones y los resultados obtenidos se crearon las bases para la futura eliminación de la enfermedad de nuestro medio y Cuba se convertiría en uno de los primeros países a escala global en lograr esta meta.

Actualmente constituye una importante fuente de obtención de divisas para el país y el hecho de haber sido certificada por la OMS garantiza la posibilidad de suministros importantes de vacuna a organismos internacionales como la UNICEF y otras instituciones internacionales.

## ***CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA***

### **2.1. Hepatitis viral. Concepto y Clasificación**

Bajo el rubro de hepatitis víricas se agrupan varias infecciones diferentes, todas son fundamentalmente hepatotrópicas y tienen un cuadro clínico inicial similar, pero difieren en cuanto a etiología y en algunas características epidemiológicas, inmunológicas, clínicas e histopatológicas. Su prevención y control varían mucho (OPS, 2005).

La hepatitis viral es causada al menos por 5 virus y se nombran: hepatitis viral tipo A (HA); hepatitis viral tipo B (HB); hepatitis viral tipo C (HC), hepatitis viral tipo D (HD); y hepatitis viral tipo E (HE) (Fagan y Harrison, 2000; CDC, 2009). Otros virus pueden mostrar marcado hepatotropismo, entre ellos están el virus de la hepatitis G (VHG), el virus TT (TTV) y el virus SEN (SEN-V), los cuales son controversiales. Algunos virus pueden ocasionalmente infectar el hígado: entre los que se incluyen al Citomegalovirus humano (CMV), el virus Epstein Barr (VEB); el virus de la rubeola, el virus de la fiebre amarilla, el virus del herpes simple, algunos enterovirus y otros virus exóticos (Fagan y Harrison, 2000).

### **2.2. Historia de la hepatitis B**

La hepatitis viral es una enfermedad antigua, encontrándose la más remota referencia de ella en el Talmud Babilónico y las primeras descripciones de íctero epidémico se encuentran en los textos hipocráticos (Krugman y Giles, 1970; Atkinson et al., 2007).

La existencia de formas de hepatitis transmitidas por vía parenteral se documentó por Lurman (1885) que informó el desarrollo de ictericia en obreros del astillero en Bremen, 2 a 8 meses después de que ellos habían recibido la vacuna de la viruela preparada de la "linfa" humana. En 1937, Findlay y MacCallum describieron casos de ictericia que ocurrían dos a siete meses después de la inoculación de voluntarios con una cepa atenuada de vacuna de fiebre amarilla preparada con la adición de suero humano para estabilizar al producto (Findlay y MacCallum, 1937) y Fox y colaboradores en 1942 implicaron el suero humano como el vehículo de la transmisión.

Los términos de hepatitis A y hepatitis B fueron introducidos por MacCallum para categorizar la hepatitis infecciosa (epidémica) y hepatitis sérica (ictericia por suero homólogo) (MacCallum, 1947). Estos términos fueron adoptados por el Comité de



Hepatitis Viral de la OMS para reemplazar las descripciones previas aplicadas a estas enfermedades (WHO, 1977).

En 1963, Baruch Blumberg, del Instituto Nacional de Salud, comenzó a examinar miles de muestras de sangre de diversas poblaciones en un estudio diseñado a buscar rasgos polimórficos heredados en diferentes áreas geográficas del mundo (Blumberg 1965). Para sus investigaciones él usó el suero de múltiples pacientes hemofílicos politransfundidos y descubrió que una muestra de suero de un aborigen australiano contenía un antígeno que reaccionaba específicamente con un anticuerpo en el suero de un paciente hemofílico americano. Estudios posteriores mostraron que este antígeno australiano era raro en América del Norte y en Europa occidental, pero era prevalente en poblaciones de África y Asia y entre pacientes con leucemia, lepra lepromatosa y síndrome de Down (Blumberg et al., 1967). La hepatitis asociada al antígeno de Australia (designado ahora antígeno de superficie del virus de la hepatitis B o HBsAg) fue entonces conocida como hepatitis sérica pero no fue reconocida completamente hasta 1968. Otros notables investigadores, como Prince, Okochi y Murakami establecieron que el antígeno de Australia era encontrado específicamente en el suero de pacientes con hepatitis B (Prince, 1968; Okochi y Murakami, 1968).

El descubrimiento y caracterización del HBsAg fue un gran avance en la investigación de la hepatitis, porque permitió intensificar los estudios de la enfermedad y de la naturaleza del agente infeccioso, ya que el virus aún no se había identificado concluyentemente (Boyer et al., 1968; Almeida et al., 1969).

En los estudios de Krugman y colaboradores fueron definidas más ampliamente las relaciones seroepidemiológicas entre la hepatitis A y la hepatitis B que eventualmente condujeron a la evaluación de nuevos métodos para el diagnóstico e inmunoprofilaxis de estas enfermedades (Krugman, et al., 1967; Krugman, et al., 1970) y en 1970, Dane y colaboradores detectaron el virión completo de la hepatitis B (Dane et al., 1970)

## **2.3. Agente Infeccioso**

### **Virus de la hepatitis B**

#### **2.3.1. Clasificación y estructura del virus de la hepatitis B**

El VHB fue identificado en 1965 por B. Blumberg como el agente causal de la hepatitis sérica. Este virus es el prototipo de la familia *Hepadnaviridae* (virus ADN

hepatotrópicos) el cual posee dos géneros: *Orthohepadnavirus*, que infecta al hombre y otros mamíferos (ardilla y marmota monax, entre otras) y *Avihepadnavirus* que infecta a las aves (pato y garza entre otros) (Seeger et al., 2007)

Todos estos virus comparten cierta similitud en cuanto a la estructura y organización del genoma; producen exceso de partículas subvirales lipoproteicas compuestas por proteínas de envoltura; estrecho rango de hospederos y provocan infecciones persistentes con un marcado, aunque no absoluto hepatotropismo. (Barker et al., 1973; Lambert et al., 1991; Pugh et al., 1994).

En el suero de pacientes con hepatitis B se pueden observar al microscopio electrónico tres tipos de partículas morfológicamente diferentes (Figura 1). Todas conservan en su superficie externa el antígeno de superficie del virus hepatitis B (Bayer et al., 1968; Dane et al., 1970; Robinsón y Lutwick, 1976).

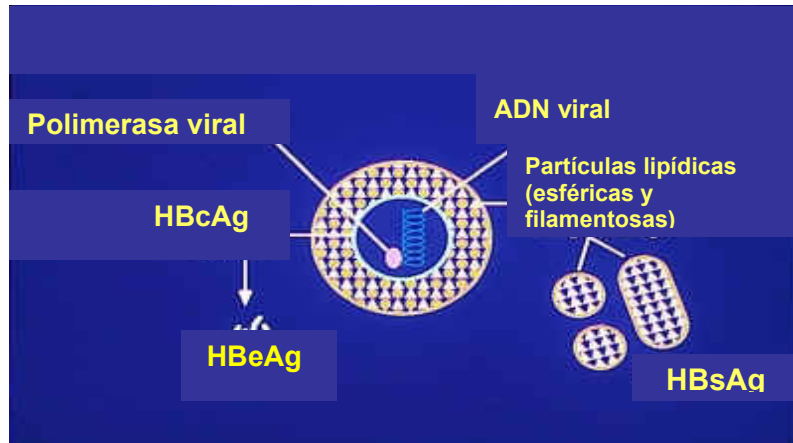
Las partículas de Dane son partículas esféricas de 42 a 47 nm de diámetro y constituyen el virión infeccioso del VHB. Poseen una doble cubierta de naturaleza lipoproteica, que contiene la glicoproteína de la superficie viral (HBsAg) (Blumberg et al., 1965).

Esta envoltura rodea la nucleocápside de 27 nm compuesta por el antígeno del core (HBcAg, siglas del inglés, hepatitis B core antigen) (Robinson et al., 1974; Summers et al., 1975).

Dentro de la nucleocápside se encuentra el ácido desoxirribonucleico (ADN) viral y una polimerasa que interviene en la replicación del genoma (Kaplan et al., 1973; Robinson et al., 1974).

Partículas esféricas: En el curso de la infección se producen en grandes cantidades, usualmente de  $10^3$  a  $10^6$  veces en exceso con respecto a las partículas Dane. Son esféricas de 22 nm de diámetro, compuestas exclusivamente por HBsAg y lípidos derivados de las células hospederas. Estas partículas carecen de ácido nucleico viral, por consiguiente no son infecciosas (Peterson, 1981; Peterson, 1987).

Las partículas filamentosas comparten características estructurales con las partículas esféricas, se producen en altas concentraciones, presentan una longitud variable que puede alcanzar hasta 200 nm (Peterson, 1981; Gavilanes y González, 1982).



**Figura 1. Presentación esquemática del Virus de la hepatitis B**

### 2.3.2. Algunas propiedades físico-químicas

La antigenicidad e inmunogenicidad del HBsAg se mantiene después de la exposición al éter, ácidos (pH 2,4 por 6 horas) y al calor (98° C por 1 minuto, 60° C por 10 horas). Sin embargo, la inactivación puede ser incompleta bajo estas condiciones si la concentración de virus es excesivamente alta. La antigenicidad y probablemente la infectividad son destruidas después de la exposición del VHB a 0,25% de hipoclorito de sodio por 3 minutos. La infectividad se pierde al esterilizar en autoclave a 121° C por 20 minutos y tratar con calor seco a 160° C por 1 hora (Ganem y Schneider, 2001). Estudios recientes indican que el VHB es lábil al glutaraldehído acuoso (2%) a temperatura ambiente por 5 minutos, isopropanol 70%, alcohol etílico 80%, a 11° C por 2 minutos y al tratamiento combinado de  $\beta$ -propiolactona y radiación ultravioleta (WHO, 1993; Ganem y Schneider, 2001). El VHB mantiene su infectividad cuando permanece almacenado a 30-32°C por al menos 6 meses y a -15°C por 15 años. El virus puede permanecer viable en superficies contaminadas hasta una semana. (Robinson, 1995; Ganem y Schneider, 2001).

## 2.4. La hepatitis B

### 2.4.1. Manifestaciones clínicas

El VHB tiene la capacidad de ocasionar un amplio espectro de manifestaciones clínicas, que va desde el estado de portador asintomático hasta la hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular. Cerca de un 90-95% de los pacientes adultos infectados se recuperan de la infección, pero existen individuos que se mantienen infectados persistentemente (McMahon et al., 1985; Arús, 1998; Fattovich, 1999).

### **Hepatitis B aguda**

Más de la mitad de los casos con hepatitis viral aguda, presentan una enfermedad que transcurre de forma inaparente y resuelve sin haber ocasionado manifestaciones clínicas. La cuarta parte de los pacientes infectados puede presentar hepatitis aguda de gravedad y duración sumamente variable. Este tipo de hepatitis casi siempre se resuelve favorablemente y sólo el 1% desarrolla hepatitis fulminante, con más del 80% de mortalidad, se presenta comúnmente en las primeras ocho semanas de la enfermedad (Fanous y Balart, 1994; Fattovich, 1999).

La historia natural de la hepatitis aguda presenta cuatro etapas clínicas (Berk y Popper, 1978; Saunders et al., 1979; Arús, 1998).

- **Periodo de incubación:** Es el tiempo transcurrido desde la exposición al virus y el primer día de inicio de los síntomas, oscila entre 45 a 120 días. Existen diversos factores que influyen en la duración de este periodo tales como: el tamaño del inóculo, la ruta de infección, la coinfección con otros agentes virales, la alteración de la patogenicidad viral por agentes químicos y físicos, la interacción virus-hospedero y la administración concurrente de anticuerpos específicos.
- **Fase pre-ictérica o prodrómica:** Esta etapa puede extenderse hasta más de un mes; se caracteriza por fiebre, malestar general, anorexia, náuseas, vómitos y mialgias. Además, los pacientes refieren dolor en el cuadrante superior derecho, a consecuencia del aumento de tamaño del hígado.
- **Fase ictérica:** Comienza en los primeros diez días después del inicio de los síntomas. Se caracteriza por la coloración amarilla de piel, mucosas, conjuntiva y esclerótica, acompañada de coluria y acolia. Al examen físico se constata una hepatomegalia, que en algunos casos pudiera estar acompañada de esplenomegalia.

- Periodo de convalecencia: Es variable en el tiempo, aquí las funciones del parénquima hepático se recuperan gradualmente, desaparecen los síntomas y signos de la infección, a causa de la regresión completa del proceso inflamatorio.

### **Hepatitis B crónica**

Los síntomas de la hepatitis B crónica son típicamente ligeros e inespecíficos. La enfermedad evoluciona de forma inadvertida y puede llegar hasta la cirrosis, donde el paciente desarrolla complicaciones de esta entidad: sangramientos por varices esofágicas, ascitis y manifestaciones de encefalopatía hepática (Hoofnagle, 1978; De Francis et al., 1993). Estos pacientes se mantienen asintomáticos por muchos años con evidentes alteraciones bioquímicas e histológicas, aunque existen algunos pacientes infectados crónicamente que no tienen alteraciones clínicas o bioquímicas de enfermedad hepática, denominados portadores asintomáticos del VHB o simplemente portadores del HBsAg. Cerca de un tercio de ellos evolucionan a enfermedad hepática grave que puede causar cirrosis (fibrosis severa) o cáncer de hígado. Entre un 15% y un 25% de estas personas mueren a causa de complicaciones de la enfermedad hepática crónica (McMahon, 1990). La enfermedad puede tener períodos de exacerbación que clínicamente son semejantes a una hepatitis aguda; lo que pudiera corresponder a un reinicio de la replicación viral o una sobre infección por otro virus hepatotrofo (Hoofnagle et al., 1978).

La cronicidad es poco frecuente en los pacientes adultos con hepatitis icterica clásica, pero es común en los recién nacidos de madres portadoras del virus y en pacientes inmunocomprometidos. Por ello, la mayoría de los adultos con hepatitis aguda acompañada de ictericia con HBsAg detectable, que aparentemente evolucionan a enfermedad crónica, son en realidad portadores previos del VHB que lo ignoraban y que han presentado una hepatitis aguda por otro virus o de otra etiología (Sánchez-Tapias, 1989).

El examen físico ofrece pocos datos, puede detectarse una hepatomegalia y estigmas periféricos propios de la insuficiencia hepática crónica (Hoofnagle et al., 1978; Sánchez-Tapias, 1989).

### **Manifestaciones extrahepáticas**

Los trastornos no-hepáticos incluyen:

El Síndrome similar a la enfermedad del suero (Schumacher y Gall, 1974; Weiss et al., 1978); Vasculitis aguda necrotizante (Arús, 1988; Hollinger y Liang, 2001); Glomerulonefritis membranosa (Arús, 1988; Hollinger y Liang, 2001); Acrodermitis papular de la infancia (Síndrome de Gianotti-Crosti) (Ishimaru y Ishimaru, 1976) y Crioglobulinemia esencial mixta (Galli et al., 1992; Dispenzieri y Gorevic, 1999).

#### **2.4.2. Patogénesis**

El daño hepático que se produce en el curso de la infección por VHB; es un proceso complejo y dinámico sujeto a la interacción entre el propio virus, los hepatocitos y el sistema inmunológico. Si la respuesta inmunitaria es adecuada, todas las células infectadas son destruidas, la replicación viral se inhibe y la enfermedad entra en remisión. Por el contrario si la respuesta inmunitaria no es adecuada, la infección activa persiste y continúa la progresión de la enfermedad hepática. (Muzio y Pentón, 1998).

El VHB no es citopático, salvo en situaciones de inmunosupresión. En individuos inmunocompetentes la lesión hepática se produce por la respuesta inmune del huésped, específicamente por la respuesta celular, mediada sustancialmente por los linfocitos T citotóxicos (LTC) CD8+, específicos a epítopes de proteínas virales, tales como el HBcAg, desplegados en la superficie de los hepatocitos en el contexto de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase I (Koziel, 1998; Ganem y Schneider, 2001),

Las células T CD4+ restringidas al CMH clase II, específicas a los antígenos del VHB también participan en la patogénesis de la infección, ya que son capaces de estimular a los LTC a través de la secreción de citocinas (Koziel, 1998).

En algunos casos debido a factores dependientes del virus o del hospedero la respuesta inflamatoria no específica es exagerada, lo que provoca un daño hepatocelular masivo conocido como hepatitis fulminante (Fagan y Harrinson, 2000).

La lisis de células infectadas está determinada por la apoptosis celular provocada por la liberación de perforinas y granzimas, lo cual constituye uno de los mecanismos efectores de los LTC para detener la replicación viral. La vía no citolítica de daño hepatocelular se produce a través de la liberación de citocinas inflamatorias, como el interferón gamma (IFN-g), factor de necrosis tumoral e interleucina (IL) -2, secretadas por las células T CD8+. En estas condiciones se produce el reclutamiento de células inflamatorias no

antígeno específicas, especialmente monocitos y macrófagos que participan en la lesión hepatocelular. (Robinson, 1994; Fagan y Harrinson, 2000).

Las cepas del VHB difieren en su grado de patogenicidad. Factores tales como: serotipos y genotipos, ritmo de replicación y la presencia de mutaciones influyen en la patogenia de la enfermedad. En varios estudios se ha demostrado que las mutaciones virales se asocian con formas fulminantes de hepatitis B. Asimismo, mutaciones del precore que dan lugar a fenotipos negativos al HBcAg o mutaciones en el promotor del *core*; están relacionadas con el incremento de la replicación viral. (Baumert, 1996; Moriyama et al., 1996).

El genotipo C se ha relacionado con cuadros severos de hepatitis y el genotipo B con el desarrollo de carcinoma hepatocelular (Kao et al., 2000).

En la mayoría de los pacientes inmunocompetentes con hepatitis B crónica no existe relación entre la carga viral y la severidad de la enfermedad. Sin embargo, una hepatopatía importante por efecto citopático directo puede ocurrir cuando la carga viral es extremadamente alta (Lok, 2000). Probablemente la acumulación de proteínas virales en el retículo endoplásmico tiene efecto citotóxico para la célula (Gerlich, 1991).

Además hay que tener en cuenta, que en los individuos inmunocomprometidos a pesar de la deficiente respuesta celular a nivel de hígado, ésta es capaz de provocar daño (Koziel, 1998). Los pacientes en hemodiálisis de mantenimiento, tienen una carga viral que fluctúa con el tiempo y la infección con cepas virulentas determinan la magnitud del daño hepático (Fabrizi et al., 2002).

### **2.4.3. Patología**

La lesión hepática provocada por el VHB se distingue por la presencia de infiltrado inflamatorio, destrucción hepatocelular y regeneración hística. Aunque estos cambios histopatológicos generalmente resuelven después de la eliminación del virus; durante la infección crónica el daño que se produce es permanente (Desmet et al., 1994; Bedossa y Poynard, 1996). Entretanto, en la fase aguda el daño hepatocelular es marcado por una degeneración grasa y presencia de cuerpos acidofílicos en el citoplasma. Las manifestaciones histológicas de la apoptosis están representadas por un aumento de tamaño de los hepatocitos, con fragmentación de la membrana celular, citoplasma con gránulos pálidos y desintegración nuclear. En la necrosis hepatocelular focal se observan

focos intralobulillares de hepatocitos necróticos y apoptóticos rodeados de células inflamatorias incluyendo macrófagos, linfocitos y escasas células plasmáticas. Los cambios de la regeneración hística se caracterizan por la presencia de hepatocitos binucleados, hipercromasia nuclear y cordones de doble capa celular (Brunetto et al., 1991). En la hepatitis fulminante o severa se produce una necrosis masiva del tejido hepático que puede extenderse a las estructuras vasculares. La regeneración nodular y distorsión de la arquitectura hepática, que ocurre en el periodo de recuperación, a diferencia de la hepatitis crónica o cirrosis no progresa (Chisari et al., 1987).

En la hepatitis crónica, la biopsia hepática muestra que los hepatocitos dañados tienen grandes inclusiones citoplasmáticas de un material eosinófilo, pálido, homogéneo y finamente granular (en "vidrio esmerilado"), que desplazan el núcleo a la periferia y están rodeados por un margen de citoplasma de aspecto normal. Hay una destrucción progresiva de los hepatocitos acompañada de inflamación y fibrosis (Desmet et al., 1994; Bedossa y Poynard, 1996). La relativa abundancia de células plasmáticas permite distinguir la hepatitis crónica de las formas agudas. Los hepatocitos están rodeados de tejido conectivo formando tabiques, que gradualmente se extienden entre las áreas portales. La destrucción acinar se traduce en una marcada distorsión del parénquima hepático, que es reemplazado por nódulos regenerativos rodeados por bandas fibrosas. Este patrón es clásico de la cirrosis. (Chisari et al., 1987; Lau et al., 1992).

#### **2.4.4. Algunos aspectos inmunológicos de importancia**

La respuesta del hospedero al VHB tiene como base una compleja interacción de los sistemas celulares y humorales de la respuesta inmune innata y adaptativa. Después de la infección de los hepatocitos; comienza la respuesta inmune temprana no-específica que incluye el sistema de los interferones, células asesinas naturales (NK, siglas del inglés, natural killer) y la activación no específica de las células Kupffer (Kazuiro et al., 2000).

Una vez que la respuesta innata se pone en marcha, esta dirige cualitativa y cuantitativamente la respuesta inmune específica contra las proteínas virales, la que comienza a jugar un papel preponderante. Las dos principales armas con que cuenta el sistema inmune son la rama humoral, dada por la producción de anticuerpos por los linfocitos B y la rama celular compuesta por varias subpoblaciones celulares de linfocitos T (Delves y Roitt, 2000).



Una respuesta de células T vigorosa y dirigida a múltiples epítopos virales contenidos en el HBsAg, HBcAg y la ADN polimerasa garantiza una rápida recuperación de la infección, comportándose como uno de los principales efectores antivirales (Koziel, 1998). Los linfocitos T cooperadores (Th, siglas del inglés, helper T lymphocytes), generalmente CD4, secretan interferón gamma, interleucina (IL) -2 y factor de necrosis tumoral, que inducen una respuesta celular (Th1) capaz de eliminar al virus. Las células CD8 además de eliminar físicamente las células infectadas producen varias citocinas, que refuerzan la respuesta y dejan una resistencia al virus en las células adyacentes a la infección (Delves y Roitt, 2000), mientras que, los virus que circulan en sangre son susceptibles a los mecanismos efectores de los anticuerpos.

En el curso crónico de la infección, la respuesta de células T CD4 resulta menos potente y oligoespecífica, que en los pacientes con hepatitis aguda autolimitada. Durante la persistencia viral la respuesta de LTC es débil o indetectable, lo que sugiere su papel principal en el aclaramiento viral (Koziel, 1998; Jung y Rape, 2002).

La infección crónica por el VHB ha sido atribuida a múltiples causas dependientes del virus y el hospedero; tales como:

- Una presentación de antígenos deficiente por los hepatocitos, ya que no expresan moléculas del CMH clase I y II, ni moléculas coestimuladoras, excepto durante la inflamación (Lobse et al., 1996).
- La inducción de tolerancia neonatal al VHB en los pacientes infectados al nacimiento (Jilbert et al., 1998).
- Agotamiento clonal de los linfocitos citotóxicos y la inducción de anergia inmunológica producido por una elevada carga viral durante la infección crónica (Bertoletti et al., 1994). El virus infecta células del sistema inmune (linfocitos, monocitos) y sitios inmunoprivilegiados (Zinkernagel et al., 1999).
- Durante la infección se producen mutantes de escape que evaden la respuesta inmune celular y humoral (Whitten et al., 1991).
- La presencia de factores inmunogénicos relacionados con los haplotipos CMH I y II que están asociados con la presencia de infección viral (Thursz et al., 1995).

## **2.4.5. Diagnóstico**

### **2.4.5.1. Laboratorio clínico**

En la fase pre-ictérica se encuentra leucocitosis ligera con neutrofilia, y en la fase ictérica leucocitosis con linfocitosis relativa y eosinofilia (Hollinger y Liang, 2001).

Pruebas bioquímicas: Aminotransferasas (AT) séricas: La alanino aminotransferasa (ALAT) y aspartato aminotransferasa (ASAT) son enzimas típicas de la lesión del hepatocito. En la hepatitis aguda se elevan durante el periodo de incubación tardío y se mantienen aumentadas de forma constante una vez que aparecen los síntomas (O'Grady et al., 1989; Arús, 1998).

El Centro para el Control de Enfermedades (CDC, siglas del inglés, Center for Diseases Control and Prevention) de Atlanta considera que un caso clínico de hepatitis viral aguda es el que presenta manifestaciones clínicas discretas (náuseas, anorexia, malestar general dolor abdominal) y se puede presentar ictericia, o AT séricas elevadas (niveles >400 UI) (CDC, 2009)

Un caso confirmado de hepatitis B es un caso sospechoso que el laboratorio confirma positivo a la IgM anti-HBc ó positivo al HBsAg y negativo a la IgM anti-HAV (CDC, 2009)

En las hepatitis no complicadas los niveles de ALAT son significativamente más elevados que la ASAT (Arús, 1998; Hollinger y Liang, 2001). Las aminotransferasas decaen rápidamente para normalizarse al cabo de 10-12 semanas del inicio de la enfermedad, aunque puede haber una normalización precoz entre la tercera y octava semana (Arús et al., 1994).

La persistencia de la ALAT elevada durante más de seis meses después de la fase aguda, puede ser el primer indicador de una evolución a la hepatitis crónica, aunque existen formas prolongadas que finalmente llegan a recuperarse.

La bilirrubina total y directa: se elevan en el curso de la hepatitis aguda ictérica. Sus alteraciones se comportan de forma similar a las aminotransferasas. La bilirrubina en la colestasis aumenta a expensas de la fracción conjugada (directa). No obstante, a veces sufre fluctuaciones y sus valores no se relacionan con el grado de colestasis ni con la intensidad de la ictericia (Arús, 1998; Hollinger y Liang, 2001).

Los lípidos plasmáticos totales, triglicéridos, fosfolípidos y lipoproteínas se encuentran elevados. Los niveles séricos del colesterol total aumentan ligeramente. El colesterol total en suero disminuye en los casos graves (Arús, 1998).

La gammaglutamil transpeptidasa (GGT) se considera una enzima mixta tanto de procesos de citólisis como de colestasis, aunque los valores más altos se obtienen en enfermedades colestásicas. El aumento de esta enzima en la hepatitis aguda es menos intenso que las aminotransferasas, pero es la última en volver a la normalidad, por lo que se considera un marcador útil de recuperación (O'Grady et al., 1989; Bernuau y Benhamou, 1999).

La fosfatasa alcalina (FA) sérica puede ser normal en la hepatitis aguda típica, pero en la mayoría de los enfermos está ligeramente elevada. En las formas colestásicas puede incrementarse significativamente (Arús, 1998).

Los factores de la coagulación especialmente los factores I, II, V, VII, IX y X, son buenos indicadores, ya que son producidos por este órgano. La prolongación del tiempo de protrombina (déficit de los factores II, IX y X) permite establecer la existencia de una falla en la función de síntesis, siempre que se descarte una deficiencia de vitamina K (O'Grady et al., 1989; Arús, 1998).

#### **2.4.5.2. Viroológico**

##### **Marcadores virales:**

Durante la infección por VHB se observan varios sistemas bien definidos de antígenos-anticuerpos (Hollinger y Liang, 2001) que permiten hacer el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad. Estos incluyen HBsAg/anti-HBs; HBcAg/anti-HBc; HBeAg/anti-HBeAg, los cuales pueden ser determinados por ensayos inmunoenzimáticos tipo ELISAs, (siglas del inglés, enzyme linked immunoabsorbent assay) y radioinmunoanálisis (RIA) comercialmente disponibles; excepto el HBcAg que no se encuentra libre en el plasma (Hollinger y Dreesman, 1980) (Tabla 1).

Los métodos más sensibles para detectar antígenos y anticuerpos del VHB son el radioinmunoanálisis (RIA) y el ELISA. Otros análisis útiles son la microscopía electrónica, la inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, la hibridación “*in situ*” y la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) (Arús, 1998; Hollinger y Liang, 2001).

**Tabla 1. Nomenclatura y sistemas definidos de antígenos y anticuerpos para el diagnóstico y seguimiento de la hepatitis B**

Marcador	Definición
<b>VHB</b>	<b>Virus de la hepatitis B</b>
<b>HBsAg</b>	Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg, siglas del inglés, <u>hepatitis B surface antigen</u> ): <b>Indica infección aguda o crónica.</b>
<b>HBeAg</b>	Antígeno e del virus de la hepatitis B (HBeAg, siglas del inglés, <u>hepatitis B e antigen</u> ): <b>Vinculado con la replicación del VHB y alta infectividad del suero.</b>
<b>HBcAg</b>	Antígeno c del virus de la hepatitis B (HBcAg, siglas del inglés, <u>hepatitis B core antigen</u> ): <b>Detectable solo en los hepatocitos infectados. Indica replicación viral.</b>
<b>Anti-HBs</b>	Anticuerpo al HBsAg (anti-HBs, siglas del inglés, <u>antibody to hepatitis B surface antigen</u> ): <b>(Indica infección pasada e inmunidad al mismo. Presencia de anticuerpo pasivo de la inmunoglobulina anti-hepatitis B o respuesta inmunitaria a la vacuna anti-hepatitis B.</b>
<b>Anti-HBe</b>	Anticuerpo al HBeAg (anti-HBe, siglas del inglés, <u>antibody to hepatitis B e antigen</u> ): <b>Indica baja infectividad del suero.</b>
<b>Anti-HBc</b>	Anticuerpo al HBcAg. (anti-HBc, siglas del inglés, <u>antibody to hepatitis B core antigen</u> ): <b>Indica infección con VHB en algún momento no definido del pasado. Marcador de exposición.</b>
<b>IgM Anti-HBc</b>	Anticuerpo de la clase IgM al HBcAg. (IgM anti-HBc, siglas del inglés, <u>IgM antibody to hepatitis B core antigen</u> ): <b>Indica infección aguda por el VHB. Útil en el período de ventana inmunológico del VHB.</b>
<b>ADN-VHB</b>	Genoma del VHB. <b>Su presencia indica replicación viral.</b>

Fuente: Hepatitis B. (WHO 2002)

Los eventos clínicos y serológicos subsecuentes a la exposición al VHB se muestran a continuación y en la Figura 2:

**HBsAg:** Es el primer marcador del VHB detectable en sangre luego de la infección viral. Aparece en el suero desde el periodo de incubación, alcanza su máxima expresión cuando se inician los síntomas y comienzan a elevarse las AT. En este momento se inicia un descenso gradual hasta que desaparece alrededor de la octava semana, a partir del inicio de los síntomas. En ocasiones persiste de doce a quince semanas (Hoofnagle et al., 1978).

Su presencia indica infección, pero no necesariamente replicación. La incapacidad de eliminar el HBsAg y de desarrollar anticuerpos anti-HBs en los seis meses posterior a la infección inicial, es una evidencia serológica del estado de portador crónico. Hay que tener en cuenta la antigenemia transitoria (<18 días) que se detecta en algunos pacientes durante la vacunación (Kloster et al., 1995).

**Anti-HBs:** Aparece generalmente en las personas que se recuperan de la infección e inmunizadas profilácticamente contra el VHB. Comienzan a detectarse durante el periodo de convalecencia y la presencia de anti-HBs indica inmunidad al VHB. Este anticuerpo aparece después de la desaparición del HBsAg; no es detectado durante el periodo de ventana por la formación de inmunocomplejos y la consiguiente eliminación del HBsAg. El anti-HBs también puede ser detectado a bajas concentraciones en los portadores crónicos (Arús, 1998; Hollinger y Liang, 2001).

Una unidad internacional (UI) de anti-HBs es capaz de neutralizar 1 mg de HBsAg (Heermann y Gerlich, 1989).

**ADN del VHB:** Las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos y la RCP se utilizan para revelar cualitativa y cuantitativamente la presencia del ADN viral (Hollinger y Dreesman, 1980; Scotto et al., 1983; Lin, 1989;) Usando estos procedimientos el virus ha sido detectado desde antes de la aparición del HBsAg hasta 1-3 semanas después de la seroconversión al anti-HBs (Kloster et al., 1995; Hu, 2002) La elevada sensibilidad de esta técnica permite hacer el diagnóstico de las infecciones ocultas por VHB, donde el HBsAg no puede ser detectado en el suero.

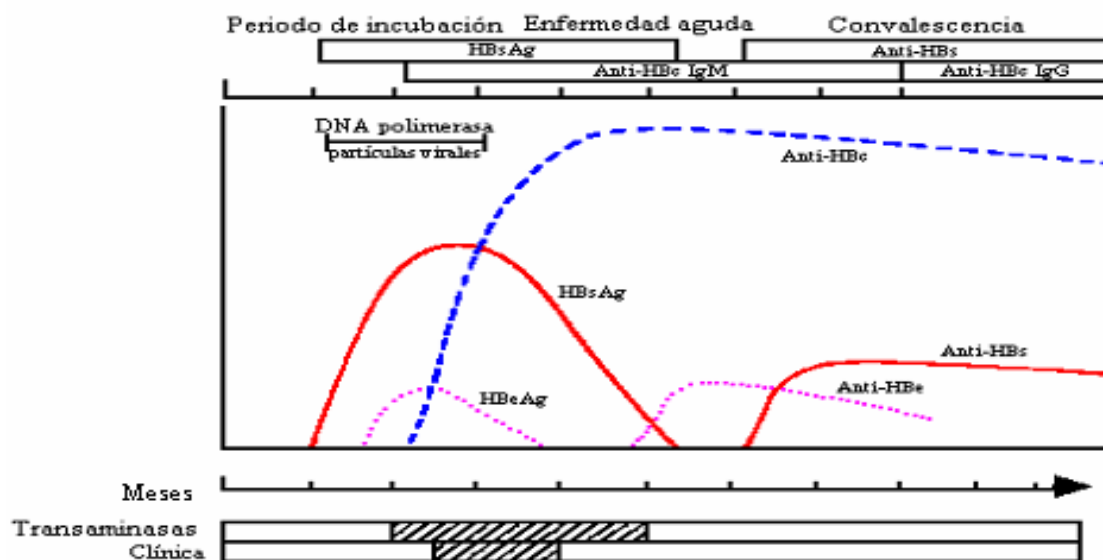
**HBeAg:** Se detecta en el suero simultáneamente con la aparición del HBsAg y las alteraciones de las AT (Weiss et al., 1978). Es uno de los marcadores de replicación del virus e infectividad. Su detección es relativamente infrecuente en el suero de pacientes hemodializados portadores del VHB (Fabrizi F et al., 2002).

**Anti-HBe:** Aparece durante la convalecencia y antes que desaparezca el HBsAg, este marcador reemplaza al HBeAg. Se correlaciona con la disminución de la replicación viral y comienzo de la resolución de la enfermedad (Hoofnagle, 1981)

**Anti-HBc:** Indica infección en algún momento del pasado. Marcador de exposición

**IgM Anti-HBc:** La IgM específica anti-HBc se detecta de 2 a 4 semanas después de la reactividad al HBsAg, se produce en respuesta a la síntesis de proteína de la nucleocápside del virión. La aparición de este anticuerpo indica replicación viral y es el marcador más importante en el periodo de ventana inmunológica de la hepatitis B. Los títulos de IgM declinan a niveles indetectables si la enfermedad resuelve o se cronifica, por lo que su presencia en el suero es indicativo de infección aguda. Por otro lado, la

IgG anti-HBc generalmente se mantiene detectable de por vida (Gerlich et al., 1980; Kriger et al., 1981)



**Figura 2: Eventos clínicos y serológicos subsiguientes a la infección por el VHB.**  
Fuente: Hollinger y Liang, 2001

La actividad de la ADN polimerasa, el ADN viral y el HBeAg, los cuales son representativos de la etapa virémica de la hepatitis B, se presentan tempranamente en el período de incubación de manera concurrente o poco después de la primera aparición del HBsAg. En la sangre pueden aparecer grandes concentraciones de partículas del VHB (hasta  $10^{10}$  partículas/ml) durante la fase inicial de la infección. El HBsAg casi siempre es detectable 2 a 6 semanas antes de la evidencia clínica y bioquímica de hepatitis y persiste durante toda la evolución clínica de la enfermedad, pero típicamente desaparece al sexto mes después de la exposición.

Con frecuencia se detectan grandes concentraciones de IgM anti-HBc específica al inicio de la enfermedad clínica, aproximadamente 2 a 4 semanas después de la aparición de la reactividad al HBsAg. Puesto que este anticuerpo está dirigido al core de 27 nm del VHB, su aparición en el suero indica replicación viral, además, es el marcador más importante en el período de ventana inmunológica de la hepatitis B. El anti-HBs, se detecta por primera vez durante un período variable después de la desaparición del HBsAg. Se presenta en concentraciones bajas. Antes de la desaparición del HBsAg, el

HBeAg es sustituido por anti-HBe, lo cual señala el inicio de la resolución de la enfermedad. Las concentraciones de anti-HBe con frecuencia ya no son detectables después de seis meses. Por definición, los portadores crónicos del VHB son aquellos en quienes persiste el HBsAg por más de seis meses, en presencia de HBeAg o de anti-HBe. El HBsAg puede persistir durante años después de la pérdida de HBeAg. La IgM anti-HBc es sustituida por la IgG anti-HBc, la cual persiste durante años como huella de la exposición al VHB (Seeger et al., 2007)

Los nuevos marcadores virológicos de la hepatitis B incluyen: genotipos del VHB, el perfil de las sustituciones aminoácidas asociados a la resistencia y la cuantificación del ADNccc (circular, cerrado covalentemente) y del HBsAg sérico (Pawlotsky, 2008)

#### **2.4.6. Tratamiento**

##### **Hepatitis B aguda**

No existe tratamiento específico para la hepatitis viral B aguda benigna, las medidas generales deben estar encaminadas a garantizar bienestar y balance nutricional adecuado del paciente. Se proscriben la indicación de corticosteroides, pues no tienen efecto en la resolución de la enfermedad, por el contrario contribuyen al desarrollo de la infección persistente. La administración de anti-HBs a pacientes con hepatitis B fulminante no ha reportado ningún beneficio (Acute Hepatic Failure Study Group, 1997). Los interferones alfa (natural y recombinante) han sido utilizados en la hepatitis viral aguda B sin resultados satisfactorios (Arús, 1998)

##### **Hepatitis crónica**

El objetivo del tratamiento de la hepatitis B crónica es reducir los síntomas, minimizar la inflamación crónica y prevenir la progresión a fibrosis hepatocelular, ya que la erradicación completa de la infección no es posible en la mayoría de los casos (Hollinger y Liang, 2001; Markowitz, 1998). Por diversas circunstancias, no en todos los pacientes con infección crónica por el VHB está indicado el tratamiento antivírico. Pacientes portadores del HBsAg con AT normales, y un hígado sin lesiones histológicas son candidatos a no recibir tratamiento (Hollinger y Liang, 2001).

En los últimos años han sido aprobados varios productos para el tratamiento de la hepatitis B crónica, entre los que se encuentran el interferón pegilado que posee

características superiores y se ha ido desarrollando una línea de tratamientos basados en la inhibición de la enzima ADN polimerasa viral como la Lamivudina, el Adefovir Dipivoxil, el Entecavir y la Telbivudina. (Gitlin, 1997; Lai, 1997; Markowitz, 1998; Dienstag, 1999; Hollinger y Liang, 2001; HBF Drug Watch, 2006)

## **2.5. Epidemiología de la hepatitis B**

La hepatitis B es una enfermedad de distribución universal con importantes diferencias en su incidencia y mecanismos de transmisión en función de las condiciones socio económicas, sanitarias y culturales de las diferentes regiones geográficas. El VHB está presente en la sangre y cualquier otro líquido corporal que contenga sangre, fluidos corporales y líquidos orgánicos, lágrimas, saliva, líquido cefalorraquídeo; líquido peritoneal, pleural, pericárdico y sinovial; líquido amniótico; semen y secreciones vaginales de las personas portadoras del virus, tanto sean asintomáticas o presenten una infección aguda o crónica, y son ellas quienes constituyen el foco o reservorio del virus a los efectos de la transmisión (Tregnaghi, 2002).

Dado que el VHB es estable en superficies ambientales durante siete días por los menos, puede producirse su inoculación indirecta a través de objetos inanimados. No se ha demostrado la transmisión fecal-oral o por vectores (WHO, 2002; OPS, 2005; CDC, 2009).

Los principales modos de transmisión son el contacto sexual o contacto en el hogar con una persona infectada, la transmisión perinatal de la madre al hijo, la transmisión parenteral con el uso de drogas inyectables, exposición nosocomial y cualquier forma que incluya la penetración del agente a través de las vías intramuscular, intravenosa, subcutánea o intradérmica (WHO, 2002; OPS, 2005; CDC, 2009).

La transmisión sexual del varón infectado a la mujer es tres veces más eficaz que de la mujer al varón. El coito anal ya sea penetrante o receptivo, se acompaña de un elevado riesgo de infección. En el núcleo familiar, el VHB por lo común se transmite de niño a niño. Se han señalado las maquinillas de afeitar y los cepillos dentales compartidos por varias personas como vehículo ocasional de transmisión del VHB en ese contexto. Es frecuente la transmisión perinatal, en particular cuando las madres infectadas por el virus también son seropositivas para el HBsAg. La tasa de transmisión de madres con



positividad de los antígenos de superficie y el antígeno e, es superior al 70%. La transmisión del VHB durante el período perinatal representa uno de los mecanismos más eficientes para la infección por este virus y generalmente conduce a secuelas a largo plazo. De los niños nacidos de madres infectadas entre el 70% y el 90% adquieren la infección perinatal y de estos entre el 80% y el 90% se convierten en portadores crónicos. Pasan a la cronicidad entre un 25 y 50% de los niños infectados antes de los 5 años de edad y sólo entre el 6 al 10% de los adultos (WHO, 1988; Committee on Infectious diseases, 1992).

La transmisión por el uso de drogas inyectables se produce por transferencia de sangre infectada con el virus al compartir jeringuillas y agujas, ya sea directamente o por contaminación de los utensilios usados para preparar la droga. Las exposiciones nosocomiales, como transfusiones de sangre o hemoderivados, hemodiálisis, acupuntura y pinchazos de aguja u otras lesiones por instrumentos cortantes sufridas por personal hospitalario, han ocasionado transmisión del VHB. La inmunoglobulina, la fracción de proteínas del plasma tratada con calor, la albúmina y la fibrinolisisina se consideran inocuas (OPS, 2005).

Según estimados mundiales de seroprevalencia se plantea que más de 2000 millones de personas han sido infectadas por el VHB y se estima que existen más de 350 millones de portadores del VHB en el mundo, de los cuales aproximadamente 90 millones tienen riesgo de fallecer por enfermedades crónicas del hígado, cirrosis o carcinoma hepatocelular primario. Cada año aproximadamente un millón de personas fallecen por secuelas agudas o crónicas y se producen más de cuatro millones de casos clínicos agudos nuevos provocadas por este agente causal, considerándosele una de las mayores causas de morbimortalidad por enfermedades infecciosas a nivel global (Jacques et al., 2002; OPS, 2005; Mumtaz y Siddiq, 2008).

Se considera que el VHB puede causar hasta el 80% de todos los casos de carcinoma hepatocelular a nivel mundial, siendo el segundo carcinógeno en los seres humanos sólo precedido por el tabaco (WHO, 2001; Hollinger y Liang, 2001; WHO, 2002. CDC, 2007).

Cuba se encuentra ubicada en un área geográfica de endemicidad baja a la infección por el VHB (proporción de HBsAg < de 2% (WHO, 1987; CDC, 2007). En una comunidad

cubana estudiada en el año 1985, se reportó un 3% de prevalencia HBsAg (Galbán, 1990). En Cuba en el año 2008, la prevalencia e incidencia de infección por el VHB en hemodializados se redujeron a 0,3% y 0,04% respectivamente, muy inferior a la comparada con años anteriores; y la prevalencia en donantes de sangre fue de sólo el 0,4% (MINSAP, 2009), y 0,1% en mujeres embarazadas en el 2007 (MINSAP, 2007).

Los resultados de estudios clínicos realizados en diferentes grupos específicos, conducidos por el IPK en nuestro país, coadyuvaron al inicio de la vacunación universal de los recién nacidos cubanos en el año 1992 y a las diferentes estrategias trazadas por el MINSAP, entre las que se encuentran la extensión de la vacunación a diferentes grupos poblacionales y de riesgo a la infección por el VHB. Ya en el 2008 se habían vacunado más de cuatro millones de cubanos y la población menor de 27 años quedó vacunada contra la hepatitis B, todo lo cual ha permitido interrumpir la transmisión de la hepatitis B aguda en niños menores de 15 años a partir del año 2000, además se ha observado una drástica reducción de la incidencia en población general al reportarse solamente 15 casos en el 2008 en el país (tasa  $0,1 \times 10^5$  habitantes) (MINSAP, 2009). (Anexo 1, Figuras 3, 4 y 5)

### **2.5.1 Epidemiología molecular de la hepatitis B**

La heterogeneidad del HBsAg se ha establecido por reacciones serológicas, utilizando anticuerpos humanos y murinos que reconocen determinantes y subdeterminantes antigénicos de esta molécula. Hasta el momento se han definido nueve subtipos serológicos del HBsAg: ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, adw2, adw4, ayr, adr<sup>q+</sup>, y adr<sup>q-</sup> (Norder et al., 2004). La letra “a” representa una especificidad antigénica común a todos los subtipos del VHB. Las letras d/y y w/r, respectivamente, denotan pares mutuamente excluyentes, característicos de los subtipos antigénicos. Estos son el resultado de diferencias antigénicas de la proteína S, las que están directamente relacionados con sustituciones de aminoácidos dentro de la secuencia de esta proteína (Pumpens et al., 2002; Schaefer, 2007). La variación de subtipo se correlaciona con los residuos de aa 122 (d=lisina, y=arginina) y 160 (w=lisina, r=arginina) (Fagan y Harrison, 2000; Shaefer, 2007).

Existen ocho genotipos del VHB designados con las letras A-H (Pumpens et al., 2002; Arauz-Ruiz et al., 2002; Pujol y Devesa, 2005; Kramvis et al., 2005) (Anexo 2, Figura 6) Se ha descrito una correlación directa entre subtipos y genotipos. Los genotipos A y B representan las cepas adw2 y ayw1, respectivamente. Todos los aislamientos del VHB con subdeterminantes antigénicos “r” están asociados con el grupo C. El grupo D contiene ayw2, ayw3 y algunas cepas ayw4. Por último, los subtipos ayw4 y adw4 están incluidos en los grupos E y F, respectivamente (Norder et al., 1994; Pumpens et al., 2002).

Los subtipos y genotipos tienen una distribución geográfica, el genotipo A es mayormente reportado en Estados Unidos, Norte de Europa y Africa Central. Las cepas que pertenecen a los genotipos B y C afectan al sudeste asiático y el Lejano Oriente. El genotipo D esta ampliamente distribuido, pero tiene una elevada prevalencia en la región del Mediterráneo y en el oeste de Asia. Asimismo, los genotipos E y F se observan con mayor frecuencia en poblaciones del Africa Occidental y América (Pumpens et al., 2002; Schaefer, 2007) Recientemente se ha señalado la influencia de los genotipos en la progresión de la enfermedad hepática en pacientes con infección crónica por VHB y en la respuesta al tratamiento (Schaefer, 2007).

En un estudio presentado sobre los genotipos del VHB en Cuba,<sup>1</sup> de 148 muestras estudiadas de pacientes cubanos con hepatitis crónica B, el 66% de los aislamientos correspondieron al genotipo A, el 32% al genotipo D, y el 0,7% a los genotipos B, E y H respectivamente. (Anexo 3, Figura 7).

### **2.5.2. Situación mundial de la hepatitis B**

La hepatitis B es una enfermedad de distribución mundial. Las altas tasas de portadores se encuentran fundamentalmente en países con deficientes o limitados recursos de salud. En áreas de Asia y África la diseminación de la infección suele ocurrir en los primeros años de edad y los porcentajes de portadores pueden ser de 10 a 15% o más. Estas cifras suelen ser menores en países con altos estándares de salud como Canadá, Gran Bretaña. Estados Unidos, Escandinavia y algunos países europeos (WHO, 2002, CDC, 2007)

---

<sup>1</sup> Pujol FH. Hepatitis B virus genetic variability in Latin America. [Presentación en Symposium]. En: II International Symposium Immunotherapy of viral hepatitis B and C, Varadero, April 30 -May 3, 2008.

En muchos países subdesarrollados, el riesgo de infección también se hace patente por la utilización de jeringuillas, agujas e instrumentales mal esterilizados, lo que en muchas ocasiones ha dado lugar a la aparición de brotes epidémicos en pacientes de hospitales e instituciones de salud. En países de alta endemicidad a la enfermedad, donde la vacunación universal ha sido instaurada, se evidencia que es posible la eliminación de la hepatitis B de los humanos. Desde el año 1982 las vacunas anti-hepatitis B han estado disponibles y desde esa fecha se han inmunizado cientos de millones de individuos con un buen registro de seguridad e impacto en la enfermedad. El estado de portador ha sido reducido de alta prevalencia a baja prevalencia en cohortes de niños inmunizados en muchos países del mundo (WHO, 2002; OPS, 2005)

El mundo se puede dividir en áreas de alta ( $> 8\%$  HBsAg y 70-95% antiHBs), intermedia (2-8% HBsAg y 20-55 % antiHBs), y baja ( $< 2\%$  HBsAg y 4-6 % antiHBs) endemicidad de infección crónica por el VHB (Anexo 4, Figura 8) (Viral Hepatitis Prevention Board. Universal HB immunization by 1997: where are we now? 1998; Mahoney y Kane, 1999; CDC, 2007)

Las áreas de alta endemicidad incluyen sureste de Asia y la Cuenca del Pacífico (excluye Japón, Australia, y Nueva Zelanda), África subsahariana, la Cuenca del Amazonas, partes del Este del Medio Oriente, las Repúblicas centrales asiáticas, y varios países en Europa oriental. En estas áreas aproximadamente entre el 70 a 90% de la población se ha infectado con el VHB antes de la edad de 40 años y 8 a 20% de las personas son portadores del VHB (Hollinger y Liang, 2001; CDC, 2007). En países tales como China, Senegal, y Tailandia, las tasas de infección son muy altas en infantes, y continúan altas en la niñez temprana. En Panamá, Nueva Guinea, Islas Salomón, Groenlandia y en poblaciones tales como los indios de Alaska las tasas de infección en infantes son bajas relativamente pero se incrementan rápidamente durante la temprana niñez (Hollinger y Liang, 2001). Las áreas de baja endemicidad incluyen América del Norte, Europa Occidental y Norte, Australia, y partes de América del Sur. Las tasas de portadores son aquí menos del 2%, y menos del 20% de la población está infectada con el VHB (Mahoney y Kane, 1999; Hollinger y Liang, 2001, CDC, 2007). El resto del mundo se ubica en el área intermedia que oscila entre 2 a 8% de infección crónica al VHB en la población (Anexo 4, Figura 8) (WHO, 2002; CDC, 2007)

El uso de la vacuna contra la hepatitis B en el mundo es evaluado a través de la cobertura de población vacunada con la tercera dosis de la vacuna (Hep B3) (Anexo 5, Figura 9) (WHO/UNICEF, 2007)

Durante el año 2006, 164 (85,4%) de los 192 estados miembros de la OMS habían introducido la vacuna contra la hepatitis B en sus países. De estos 164 estados, 131 (80%) tenían cobertura de HepB3 = ó >80%; 30 países (18,3%) registraron una cobertura menor del 80% de Hep3 y 3 (2%) han introducido la vacunación contra la hepatitis B pero no reportaron datos de cobertura y 28 países (14,5%) no han introducido la vacuna en sus naciones (WHO/UNICEF/2007).

### **2.5.3. Prevención y control**

La prevención es finalmente la medida más eficiente para mejorar la salud mundial (Ehreth, 2003).

El primer nivel para evitar el contacto con el virus es una adecuada y continua información a toda la población y, más concretamente a los grupos de mayor riesgo, ya que incluso con buen nivel cultural muchas personas no están debidamente informadas (Juanes et al., 1995). Los principales grupos de riesgo para la infección por el VHB son los hijos de madres positivas al HBsAg; el contacto sexual e intradomiciliario de personas infectadas con el VHB; los trabajadores, estudiantes y profesionales de atención de salud pública; los usuarios de drogas por vía parenteral al usar agujas mal esterilizadas así como las personas que comparten equipos médicos o estomatológicos no esterilizados; personas que reciben tatuajes o acupuntura con materiales o dispositivos mal esterilizados; personas que viven o viajan hacia áreas endémicas de hepatitis B; hombres que tienen sexo con hombres y heterosexuales sexualmente activos; trabajadores de necrocomio, servicios funerales y forenses; personal que trabaja con sangre y hemoderivados; minusválidos con baja atención social y otras personas que viven en instituciones, casas comunales u hogares de ancianos así como los trabajadores de estos centros; pacientes que reciben o van a recibir transfusiones de sangre o sus derivados, hemodiálisis, plasmaféresis o aquellos afectados por problemas oncológicos, nefropatías o cirrosis, hemofílicos, entre otros; pacientes de cirugía electiva con tiempo suficiente para seroconversión; receptores de órganos de trasplantes; soldados y otros

militares en servicio activo; prisioneros, guardas y otros empleados de prisiones (WHO, 2002; CDC, 2007)

El segundo nivel consiste en destruir el virus mediante técnicas de alta desinfección o esterilización y facilitar las medidas tipo barrera más adecuadas.

Hay que ofertar y promover el uso, en la comunidad o en el ámbito laboral, de todo material que se interponga entre el agente y el huésped.

El tercer nivel es la prevención pre y postexposición, mediante la utilización de productos inmunobiológicos (Juanes et al., 1995; OPS 2005)

Al principio la lucha contra esta infección se llevó a cabo mediante la utilización de inmunoglobulina inespecífica estándar (IgS) y posteriormente de forma específica contra la hepatitis B (IgHB), es decir, hiperinmune, con títulos elevados de anticuerpos (Prince et al., 1971). En 1997 y 1981, el Comité Asesor en Prácticas de Immunization (ACIP siglas del inglés, Advisory Committee on Immunization Practices) y CDC recomiendan su uso en caso de accidente con sangre contaminada (CDC, 1977; CDC, 1981; CDC, 2007).

De las ramas de la medicina moderna, se puede afirmar que la vacunología es una de las que más ha contribuido a aliviar la miseria humana y al incremento espectacular de la esperanza de vida en los últimos dos siglos (André, 2003).

La estrategia actual de la OMS para la prevención de la hepatitis B se basa en la vacunación universal de rutina de los recién nacidos o los lactantes. Desde 1991 la OMS ha recomendado la inclusión de la vacunación contra la hepatitis B en sus Programas nacionales de Inmunizaciones (WHO, 2002; WHO, 2009) La mayor reducción en la incidencia y la prevalencia de la hepatitis B se logra en los países con una amplia cobertura de vacunación al nacimiento o durante el primer año de vida (Anexo 5, Figura 9). La vacunación de cohortes sucesivas de lactantes induce una elevada inmunidad y basta para interrumpir la transmisión (OPS, 2005).

En los países con alta endemicidad del VHB, la vacunación de rutina de los recién nacidos y lactantes elimina de manera rápida la transmisión, porque prácticamente todas las infecciones crónicas se contraen en la primera infancia. Mientras que en los países con baja o intermedia endemicidad, la sola vacunación de los lactantes no disminuirá en forma sustancial la incidencia de la enfermedad durante unos 15 años, porque casi todas

las infecciones se presentan en adolescentes y adultos jóvenes, por lo que pueden ser recomendables las estrategias para vacunar a niños de mayor edad, adolescentes y adultos. En estos países es posible que las estrategias para lograr una elevada cobertura de vacunación en cohortes sucesivas de grupos de edades, sean las más eficaces para eliminar la transmisión del VHB. Además, las estrategias de vacunación también pueden dirigirse a grupos de alto riesgo, que representan la mayor parte de los casos en adolescentes y adultos. Vacunar a los adolescentes también resulta útil ya que protege contra la transmisión por contacto sexual o por uso de drogas inyectables (OPS, 2005). Aunque en la actualidad no se ha demostrado que constituya un problema de importancia, un aspecto a tener en cuenta en la prevención de la hepatitis B lo constituye la posible aparición de mutantes de escape a la vacuna cuando el virus mutado no es reconocido por los anticuerpos vacunales, en este caso la eficacia de las actuales estrategias de vacunación pudiera verse afectada por la aparición de dichos mutantes y amenazada a largo plazo si en la población vacunada estuvieran circulando cepas de mutantes del VHB incapaces de ser reconocidos por los anticuerpos inducidos por la vacuna. (Muzio y Pentón, 1998; Navarro et al., 2009)

Las recomendaciones para la profilaxis de postexposición a la infección por el VHB se pueden observar en el Anexo 6, (Tabla 2). (CDC, 2007)

#### **2.5.4. Vigilancia de la hepatitis B**

La vigilancia es el análisis, interpretación y difusión sistemática de datos colectados, generalmente usando métodos que se distinguen por ser prácticos, uniformes y rápidos, más que por su exactitud o totalidad, que sirven para observar las tendencias en tiempo, lugar y persona, con lo que pueden observarse o anticiparse cambios para realizar las acciones oportunas, incluyendo la investigación y la aplicación de medidas de prevención y control de enfermedades (OPS, 2002).

Los procedimientos de los sistemas de vigilancia de hepatitis B deben incluir:

- Monitoreo de la incidencia de la enfermedad.
- Determinación de fuentes de infección y modos de transmisión por medio de investigaciones epidemiológicas.

- Educación a los grupos de alto riesgo y a los trabajadores de salud para reducir el riesgo de contraer el virus y las posibilidades de transmisión a otros grupos poblacionales y promover e incrementar la vacunación contra la hepatitis B.
- Examen de la sangre y los productos sanguíneos para reducir las posibilidades de que la sangre suministrada a pacientes pueda contener patógenos como el VHB (WHO, 2002.)

Los sistemas de vigilancia para las hepatitis B varían en sus métodos e integridad. En muchos países, la notificación de las infecciones del VHB es obligatoria. Sin embargo, la definición de caso varía y la confirmación del laboratorio no siempre se usa. Otro elemento de importancia es que los sistemas de información difieren, y la clasificación de los diferentes tipos de hepatitis virales no siempre se realiza. Además, el subregistro de infección por el VHB es común, por lo que los sistemas de vigilancia necesitan ser fortalecidos y estandarizados. Para el logro de una adecuada estandarización de los sistemas de vigilancia, los países deben seguir la siguiente definición de caso de hepatitis viral recomendado por el Centro para el Control de Enfermedades (CDC, siglas del inglés, Center for Diseases Control and Prevention) (CDC, 2009).

- El CDC de Atlanta considera que un caso clínico de hepatitis viral aguda es el que presenta manifestaciones clínicas discretas (náuseas, anorexia, malestar general dolor abdominal) y se puede presentar ictericia, o aminotransferasas séricas elevadas (niveles >400 UI)
- Un caso confirmado de hepatitis B es un caso sospechoso que el laboratorio confirma positivo a la IgM anti-HBc ó positivo al HBsAg y negativo a la IgM anti-HAV.

En nuestro país, la notificación obligatoria de la hepatitis viral se inició en 1960 a través de tarjetas de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO), en ellas estaban establecidos el reporte individual y detallado de los enfermos agudos con vivencias clínicas de la enfermedad y estudio de ALAT por encima de los valores de 12 UI (Rodríguez et al., 2006). En 1987, se implantó el nuevo Programa de Prevención y Control de las hepatitis virales, con los objetivos de conocer la participación de las hepatitis A, B y No A No B dentro de las hepatitis virales y prevenir y controlar la



transmisión de los virus A y B de la hepatitis. Se estableció la clasificación operacional por tipo, a partir de la realización del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) a todo enfermo agudo diagnosticado, considerando como hepatitis B los que tuviesen resultados positivos. Los resultados del HBsAg negativos en los enfermos se consideraron casos de hepatitis A, sin antecedentes de exposición a sangre o hemoderivados, o riesgo parenteral (Rodríguez et al., 2006). A partir de 1987, en que se clasificó el 11,8 % de las hepatitis virales agudas, este indicador se fue elevando hasta alcanzar el 86,2 % en el 1993. (Últimos datos disponibles) (MINSAP, 2009)

Otro hecho importante fue la introducción del diagnóstico de la hepatitis B por el sistema SUMA en 1992, con una red de laboratorios que cubre todo el país; y el de hepatitis C en 1995, que actualmente utiliza sistemas de tercera generación (Rodríguez et al., 2006)

Entre los aspectos más importantes de la vigilancia de hepatitis B en Cuba se encuentran:

- Vigilancia de la incidencia de hepatitis B.
- Reporte de brotes de hepatitis viral aguda para conocer el virus causante de los mismos.
- Estudio etiológico de casos graves y fallecidos por Fallo Hepático Fulminante (FHF) para conocer la participación del VHB en los mismos.
- Vigilancia de los hijos de madres positivas al HBsAg vacunados al nacimiento.
- Examen de toda la sangre donada para reducir las posibilidades de que ésta contenga patógenos como el VHB y sea suministrada a pacientes. (Rodríguez et al., 2006)

## **2.6. Vacunas contra la hepatitis B**

La vacunación es una de las más importantes y significativas intervenciones de salud pública en el pasado siglo (Ehreth, 2003) y es bien reconocido que la inmunización contra infecciones por patógenos y la efectividad de las vacunas son dos de los grandes logros de la medicina. La inmunización es la mejor estrategia de costo-efectividad para la prevención de la innecesaria morbilidad, mortalidad e invalidez por enfermedades infecciosas (André, 2001; Kurstak, 2003; Kurstak, 2005; Cinza et al., 2007) y su gran impacto ha evitado que millones de personas padezcan de enfermedades infecciosas.

Cada año las vacunas previenen hasta 3 millones de muertes y 750 000 niños son salvados de la invalidez, pero por otra parte cada año nacen 130 millones de niños y alrededor de 30 millones de ellos no tiene acceso a la vacunación y cerca de tres millones mueren cada año por enfermedades infecciosas prevenibles por vacunas muchas de las cuales cuestan sólo centavos por dosis (Music, 2005).

Desde el establecimiento del Programa Ampliado de Inmunización por la Asamblea Mundial de la Salud en 1974, se han alcanzado grandes progresos para llevar la vacunación a todas partes pero una gran brecha aún nos separa de ese fin y las vacunas continúan siendo subutilizadas y subvaloradas y las enfermedades prevenibles por vacunas continúan siendo una amenaza para la salud mundial (Ehreth, 2003).

La observación de que, en la infección natural, el desarrollo de anticuerpos contra el HBsAg confería protección contra una infección posterior, hizo que se dedicaran esfuerzos para obtener una vacuna que empleara como inmunógeno el HBsAg purificado. Las primeras experiencias sobre inmunización activa en esta entidad fueron realizadas con una preparación inmunogénica de suero inactivado por calor (Muzio y Pentón, 1998).

A partir de estos resultados, se comenzaron los trabajos de obtención de una vacuna segura y eficaz contra la hepatitis B. Se han empleado las diferentes vías de obtención del HBsAg que se describen posteriormente, algunas de las cuales se utilizan en la producción industrial de vacunas contra el VHB (Muzio y Pentón, 1998).

#### **Vacunas plasmáticas:**

Como el VHB no crece en cultivo de células, el primer enfoque en la elaboración de vacunas fue la obtención de las partículas de HBsAg a partir del plasma de portadores asintomáticos, preferentemente negativos al HBeAg (Muzio y Pentón, 1998).

En 1981 se licenció en Estados Unidos la primera vacuna contra la hepatitis B (Heptavax B, de la firma Merck Sharp y Dohme) (González, 2001)

El plasma se somete a un riguroso y largo proceso de purificación–inactivación que garantice la separación de las partículas de HBsAg de las partículas de Dane infecciosas. Esto se logra por la combinación de pasos de ultracentrifugación e inactivación mediante

tratamiento con pepsina, desnaturalización y renaturalización con urea y tratamiento con formaldehído (Muzio y Pentón, 1998).

Desde el inicio existieron muchas preocupaciones acerca del uso de estas vacunas por el temor al riesgo potencial de transmisión del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y otros agentes infecciosos en el plasma que pudieran evitar los procesos de inactivación empleados en la elaboración de la vacuna y también preocupaciones sobre la posibilidad de reacciones autoinmunes que pudieran provocarse por la administración de la vacuna (Muzio y Pentón, 1998).

A pesar del temor al uso de un producto derivado de la sangre, las vacunas plasmáticas demostraron ampliamente su seguridad y eficacia durante más de una década de empleo en varios millones de personas en todo el mundo y no se asociaron con riesgos de transmisión del VIH u otros agentes infecciosos (Muzio y Pentón, 1998).

### **Vacunas recombinantes**

El sistema de expresión en levaduras ha sido utilizado ampliamente con éxito para la producción eficiente del HBsAg. Las levaduras poseen las ventajas de los microorganismos unicelulares con respecto a su crecimiento rápido y fácil manipulación genética (Muzio y Pentón, 1998).

El HBsAg se ha expresado eficientemente en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. En febrero de 1984 se iniciaron los ensayos clínicos de la vacuna ADN recombinante derivada de levadura, la vacuna Engerix B, de la firma Smith Kline Beecham Biologicals, de Bélgica, y en 1986 ésta fue aprobada para uso en humanos a partir del antígeno producido por esta vía. En el resto de los años ochenta y en la década de los años noventa, se realizaron la mayoría de los estudios clínicos y las publicaciones sobre las novedosas vacunas. El HBsAg obtenido posee características similares al natural, derivado del plasma. La vacuna ha demostrado ampliamente, en animales y humanos, una consistente seguridad, inmunogenicidad y eficacia. A pesar de la amplia utilización que ha tenido *Saccharomyces cerevisiae* como sistema hospedero, esta levadura posee varias limitaciones como sistema de expresión, por lo que se han usado levaduras alternativas para la expresión exitosa del antígeno (Muzio y Pentón, 1998).

Los resultados de los estudios clínicos controlados de una vacuna recombinante obtenida mediante la expresión del HBsAg por una cepa de levadura *Pichia pastoris*, que posee, integrado en su genoma, el gen que codifica este antígeno, han evidenciado la elevada inmunogenicidad y eficacia de la preparación obtenida por esta vía. La vacuna cubana Heberbiovac HB fue la primera vacuna disponible en el mercado elaborada a partir de un antígeno obtenido en la levadura *Pichia pastoris*. (Muzio y Pentón, 1998).

Las vacunas recombinantes obtenidas por ingeniería genética han demostrado un poder inmunogénico muy satisfactorio y una carencia de efectos adversos importantes (Vaquero et al., 1987; Morales et al., 1993).

Los principales productores de vacunas recombinantes contra la hepatitis B son Bélgica, China, Cuba, Francia, India, Israel, Japón, la República de Corea, Suiza, los Estados Unidos de América y Vietnam (WHO, 2002). Entre las principales vacunas recombinantes disponibles a nivel mundial se encuentran la vacuna Engerix B (Glaxo Smith Kline); Heberbiovac HB (Heberbiotec S.A.) y Recombivax-HB (Merck Sharp & Dohme) (WHO, 2002). Además, la Dra. Verena Muzio González, del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de la Habana, Cuba (comunicación personal, 16 de octubre de 2008) ha señalado que en la actualidad, las vacunas de origen indio y coreano también poseen amplia distribución en el mercado.

Una licencia de aplicación fue archivada en Europa y en los Estados Unidos de América en 1998 para Hepagene® (Medeva), la primera vacuna recombinante anti-hepatitis B que incorpora significantes niveles de epitopes pre-S1 y pre-S2 de VHB y proteína S (WHO, 2002). La vacunación de portadores de HBV es segura pero ineficaz para eliminar el HBsAg de individuos crónicamente infectados (WHO, 2002). Las vacunas recombinantes no producen efectos terapéuticos para individuos que poseen los anticuerpos contra VHB de una infección anterior. El anticuerpo pasivamente adquirido no interferirá con la inmunización activa (WHO, 2002).

Las vacunas anti-hepatitis B pueden combinarse con otras vacunas como el bacilo de Calmette-Guérin (BCG), parotiditis, rubéola, sarampión (PRS), *Haemophilus influenzae b* (Hib), y la combinación de difteria, tétanos y pertussis con la polio (la DTP-polio). Existen varias firmas que producen vacunas combinadas entre las que se encuentran la

Glaxo SmithKline que ofrece la vacuna tetravalente DTP-HB y una vacuna combinada de hepatitis A-hepatitis B (Twinrix®, SmithKline Beecham) (WHO, 2002).

Cuba es otro de los países del mundo que su desarrollo científico-técnico le ha permitido producir vacunas combinadas como la Trivac HB, una vacuna tetravalente contra la difteria, tétanos, tos ferina y hepatitis B y la vacuna pentavalente Heberpenta contra la difteria, tétanos, tos ferina, hepatitis B y *Haemophilus influenzae b*. Ambas vacunas se encuentran disponibles comercialmente. Las vacunas Trivac HB y Heberpenta se comenzaron a utilizar en el PNI de Cuba en los años 2005 y 2006 respectivamente<sup>2</sup>

Entre los principales enfoques que se investigan en la elaboración y administración de vacunas anti-hepatitis B, se encuentran:

- Vacunas vivas (Muzio y Pentón, 1998).
- Vacunas obtenidas por síntesis química. (Muzio y Pentón, 1998).
- Vacunas de ADN desnudo (Las Vacunas del Futuro. Disponible en: <http://www.buenasalud.com/lib/ShowDoc.cfm>).
- Expresión del HBsAg en plantas para obtener vacunas de bajo costo que pudieran administrarse por vía oral (Muzio y Pentón, 1998; Dodet B, et al., 2005)
- Inmunización por vía mucosal (Bye et al., 1984; Schreuder et al., 1996; Nardelli-Haefliger et al., 1996; Iian y Chowdhury, 1999; González, 2001).

El CIGB de la Habana, trabaja en las investigaciones sobre expresión en plantas de antígenos con diversos propósitos, y ya informaron que el primer anticuerpo monoclonal recombinante obtenido en el mundo a partir de plantas (planticuerpo) para ser utilizado en la producción de la vacuna de la hepatitis B, obtuvo ya su registro sanitario (Valdés et al., 2003). Además este prestigioso centro viene trabajando en una vacuna terapéutica nasal contra la hepatitis B que contiene antígeno del core y de superficie (HBcAg y HBsAg respectivamente), que luego de ser evaluada en estudios preclínicos, ha demostrado ser inmunogénica y segura en humanos (Aguilar et al., 2007).

---

<sup>2</sup> Herrera L. La Biotecnología: Su Aplicación a Enfermedades transmisibles y el Desarrollo de Vacunas en Cuba. [Presentación en Congreso]. En: Congreso 70 Aniversario del IPK, VII Congreso Cubano de Microbiología y Parasitología, IV Congreso Nacional de Medicina Tropical, La Habana, Cuba, 1-4 junio, 2008,28,29

### ***CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS***

#### **3.1. Deontología médica:**

##### **3.1.1. Aprobación de los Comités de Ética Médica y de Revisión**

Los estudios clínicos fueron sometidos para su aprobación a la consideración de los Comités de Ética Médica y Revisión del IPK y el CIGB, los cuales fueron informados permanentemente sobre la marcha de los estudios y pudieron participar e intervenir en calidad de observadores en cualquiera de las fases de éstos.

##### **3.1.2 Consideraciones Éticas Generales con relación a los estudios**

Los estudios se realizaron siguiendo las Buenas Prácticas Clínicas (BPC), según los principios planteados en la Guía Cubana para las Buenas Prácticas Clínicas (Regulaciones no. 178/1991 y Regulaciones no. 165/2000 del Centro Estatal para el Control de la Calidad de los Medicamentos (CECMED) y una vez demostrado que la preparación cumplía los requisitos físico-químicos, inmunobiológicos, farmacológicos y preclínicos establecidos para su uso y para la aplicación parenteral en seres humanos.

El personal científico que realizó las investigaciones fue calificado y se emplearon métodos para la realización de las pruebas de laboratorio y estadísticas reconocidos a nivel internacional. Se respetó la voluntariedad de los individuos participantes y padres o tutores para su inclusión o la de los hijos en el estudio, sin que mediara un pago por esta acción.

Los ensayos fueron conducidos de acuerdo a las revisiones de la Declaración de Helsinki de la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964 y enmendada por la 29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre 1975; la 35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983; la 41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989 y la 48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996

El estado de salud de las personas que participaron en los diferentes estudios fue satisfactorio, demostrado por examen médico especializado y en el caso de los ancianos, existía una proporción que por razones de edad padecía algún grado de incapacidad física o enfermedades crónicas que no invalidaban su participación en el estudio, y sólo se escogieron los que su estado de salud fue adecuado para su edad para la realización del ensayo.

Los investigadores principales de los diferentes estudios o el personal médico y paramédico entrenado por estos (médicos de familia, pediatras, clínicos, enfermeras) explicaron a cada voluntario adulto, y en el caso de los niños a los padres o tutores, a través de charlas, reuniones, intercambios y material escrito, toda la información sobre el diseño, los objetivos, así como los beneficios para los participantes y los riesgos de su participación en las investigaciones. Se les brindó un tiempo prudencial para que meditaran y decidieran si estaban de acuerdo ellos o sus hijos en el caso de los niños, en ser incorporados a los estudios y en los casos afirmativos se les entregó para que firmaran los documentos preparados al efecto (Consentimiento informado).

Estos estudios se justificaron desde el punto de vista ético, ya que las personas a las cuales se les aplicaría la vacuna serían beneficiadas con la aplicación de un preparado vacunal contra la hepatitis B. Para la elaboración y propuesta de ejecución de estos estudios se tuvieron presentes los resultados obtenidos inicialmente en la Fase preclínica, que caracterizaron a este producto como un inmunobiológico que puede ser administrado con seguridad en humanos.

Las administraciones de la vacuna cubana contra la hepatitis B y de la vacuna control en el caso que así se requirió se realizaron en vacunatorios de las áreas de salud seleccionadas o en locales debidamente habilitados para atender cualquier evento adverso inesperado, incluyendo reacciones anafilácticas y con la presencia de médicos especialistas en pediatría y en medicina general para la atención de niños y adultos respectivamente.

Toda la información individual relacionada con los sujetos quedó debidamente custodiada por los responsables de los ensayos, de forma tal que se garantizó la absoluta confidencialidad de los datos personales de los sujetos.

Además, a los adultos y padres se les informó que ellos o sus hijos se podrían retirar de la investigación en cualquier momento sin perjuicio alguno.

Los sujetos que fueron incluidos en los grupos de control se beneficiaron de forma similar a los individuos de los grupos de estudio, pues no se utilizaron en ningún caso placebos, sino que se empleó la misma vacuna cubana a diferentes dosis y se previó que en los casos que la dosis empleada en el control no fuese capaz de inducir una respuesta protectora, se le administraría una dosis adicional de refuerzo de 10  $\mu\text{g}$  ó 20  $\mu\text{g}$  en los

casos de niños y adultos respectivamente. En los estudios en que se empleó otra vacuna como control, ésta procedió de una firma reconocida internacionalmente y de comprobados y satisfactorios resultados de seguridad e inmunogenicidad (la vacuna plasmática contra la hepatitis B Hevac- B de Pasteur Merieux Connaught, Francia).

### **3.1.3. Reacciones adversas, preparación para enfrentarlas y medidas que se tomaron para garantizar la seguridad en la manipulación del producto.**

No se esperaban reacciones adversas de consideración, pues los datos disponibles indicaban que la vacuna no había provocado reacciones adversas graves, solamente habían aparecido reacciones locales ligeras tales como induración limitada, eritema y dolor en sitio de la inyección, aunque en todos los casos se ubicaron en los vacunatorios ampollitas de Adrenalina acuosa al 1:000, lista para su uso en caso raro e inesperado de que se produjera una reacción anafiláctica. Las manifestaciones clínicas generales y de fiebre, se combatirían con analgésicos y antipiréticos a las dosis establecidas. Ante la presencia de alguna secuela o lesión posterior a la administración de la vacuna, esto se tramitaría por los mecanismos existentes en nuestro Sistema de Salud a través de la asistencia social. Todos los participantes en los estudios fueron vacunados por enfermeras entrenadas y con experiencia en la técnica de aplicación de vacunas por vía intramuscular. Se tomaron las medidas establecidas de asepsia y antisepsia para garantizar la seguridad en la manipulación del producto y se emplearon materiales estériles desechables adquiridos para la realización de los estudios. Las vacunas se administraron en presencia de los investigadores participantes y la temperatura de conservación fue entre 2 a 8° C según las recomendaciones del prospecto de la vacuna.

## **3.2. Concepción general de los estudios**

### **3.2.1. Aspectos generales de los estudios**

Se reclutaron 4626 voluntarios y se evaluaron 4416 sujetos distribuidos en diferentes grupos de edades, que comprendieron desde recién nacidos, hasta ancianos.

### **3.2.2. Tipos, diseños y grupos de estudios**

Se incluyeron 7 estudios de evaluación de vacuna, realizados totalmente por el IPK a partir del año 1991 y un estudio en el cual participaron investigadores principales del IPK, el CIGB y el MINSAP realizado en el año 1998.



**Para facilitar la discusión de los resultados, los estudios que se presentan se han dividido en tres grupos:**

- Estudios de Inmunogenicidad (Fase II de evaluación de vacunas) que incluyen cinco estudios
- Estudio de Eficacia protectora (Fase III de evaluación de vacunas) un estudio
- Estudios de Efectividad (Fase IV de evaluación de vacunas) dos estudios.

**La evaluación de la Inmunogenicidad (Fase II) incluye a los siguientes estudios:**

1. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños pre-escolares; escolares de primaria y de secundaria básica.
2. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en ancianos.
3. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños escolares de 6 a 9 años de edad.
4. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en adultos jóvenes.
5. Comparación de la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B con la obtenida con una vacuna plasmática en adultos sanos.

**La evaluación de la Eficacia protectora (Fase III) incluye al siguiente estudio:**

6. Eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños impedidos físicos y mentales. Seguimiento hasta 14 años después del comienzo de la vacunación.

**La evaluación de la Efectividad (Fase IV) incluye a los siguientes estudios:**

7. Efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al HBsAg.
8. Seroprevalencia de los títulos de anticuerpos contra el virus de la hepatitis B en niños cubanos de 1 a 5 años de edad.

**3.2.3. Tipos y principales características de los diferentes estudios (Ver Tablas 3, 4 y 5)**

**Tabla 3. Estudios de Inmunogenicidad. Diseños Fase II de evaluación de vacunas.**

<p><b>Estudio: Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños pre-escolares; escolares de primaria y de secundaria básica</b></p> <p><b>Objetivo:</b> Evaluar la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños pre-escolares; escolares de primaria y de secundaria básica</p> <p><b>Población estudiada:</b> Niños de círculo infantil (2 a 4 años): de escuela primaria (9 a 10 años) y de secundaria básica (11 a 14 años) del municipio La Lisa en Ciudad de la Habana</p> <p><b>Ensayo</b> a simple ciego. <b>Esquema:</b> 0, 1 y 6 meses</p>							
Fecha de realización	Edad años	Número voluntarios	Tamaño Muestra	Grupos del estudio y no. voluntarios	Control	Dosis	Extracciones
1990-1992	2 a 14	137	132	A= 39 Cir. Infantil B= 51 Esc. Primaria C= 42 Esc. Secundaria	No	10 µg de HBsAg Vacuna cubana	60 días, 210 días y 365 días
<p><b>Estudio: Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en ancianos</b></p> <p><b>Objetivo:</b> Estimar las características inmunogénicas de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en ancianos</p> <p><b>Población estudiada</b> Personas mayores de 65 años de un Hogar de ancianos del municipio Cerro de Ciudad de la Habana</p> <p><b>Ensayo</b> a simple ciego. <b>Esquema:</b> 0, 1 y 6 meses</p>							
Fecha de realización	Edad años	Número voluntarios	Tamaño Muestra	Grupo del estudio y no. voluntarios	Control	Dosis	Extracciones
1991-1993	65 y más	55	39	39 ancianos	No	20 µg de HBsAg Vacuna cubana	60 días, 210 días, 365 días y 2 años.

**Tabla 3 (cont.). Estudios de Inmunogenicidad. Diseños Fase II de evaluación de vacunas**

<b>Estudio Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños escolares de 6 a 9 años de edad</b>							
<b>Objetivos:</b> Estimar la Inmunogenicidad de la vacuna Heberbiovac-HB a diferentes dosis en niños escolares de 6 a 9 años de edad							
<b>Población estudiada:</b> Niños escolares de 6 a 9 años de edad del municipio La Lisa en Ciudad de la Habana.							
<b>Ensayo a doble ciego. Esquema 0, 1 y 6 meses</b>							
Fecha de realización	Edad años	Número voluntarios	Tamaño Muestra	Grupos del estudio y no. voluntarios	Control	Dosis	Extracciones
1992-1993	6-9	221	210	A: 70 niños B: 70 niños C: 70 niños	Vacuna cubana (dosis de 10 µg)	A: 10 µg de HBsAg B: 5 µg de HBsAg C: 2,5 µg de HBsAg	60 días y 210 días
<b>Estudio: Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en adultos jóvenes</b>							
<b>Objetivos:</b> Estimar la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en adultos jóvenes							
<b>Población estudiada:</b> Adultos jóvenes de escuelas de enfermería, politécnicos de la salud y escuelas militares de C.de la Habana.							
<b>Ensayo a doble ciego. Esquema: 0, 1, 2 y 12 meses.</b>							
Fecha de realización	Edad años	Número voluntarios	Tamaño Muestra	Grupos del estudio y no. voluntarios	Control	Dosis	Extracciones
1992-1993	17-34	359	300	A: 75 adultos jóvenes B: 75 adultos jóvenes C: 75 adultos jóvenes D: 75 adultos jóvenes	Vacuna cubana (dosis de 20 µg)	A: 5 µg de HBsAg B: 10 µg de HBsAg C: 15 µg de HBsAg D: 20 µg de HBsAg	60 días, 90 días y 360 días

**Tabla 3 (cont.). Estudios de Inmunogenicidad. Diseños Fase II de evaluación de vacunas**

<b>Estudio: Comparación de la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B con la obtenida con una vacuna plasmática en adultos sanos</b>							
<b>Objetivos</b> Comparar la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B con la obtenida con una vacuna plasmática en adultos sanos y Determinar el efecto de una dosis de refuerzo de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en adultos primovacunados con la vacuna plasmática							
<b>Población estudiada:</b> Trabajadores adultos de Microbiología, Parasitología y Epidemiología del IPK							
<b>Ensayo</b> a doble ciego. <b>Esquema:</b> 0, 1, 2 y 12 meses.							
Fecha de realización	Edad años	Número voluntarios	Tamaño Muestra	Grupos del estudio y no. voluntarios	Control	Dosis	Extracciones
1992-1994	20-45	100	32	A: 14 vacuna plasmática anti-HB B: 18 vacuna cubana anti-HB.	Vacuna plasmática Hevac-B (Pasteur Merieux Connaught, Francia)	A: 20 µg de HBsAg B: 5 µg de HBsAg (dosis del adulto para la vacuna plasmática)	60 días, 90 días, 360 días y 13 meses

**Tabla 4. Estudio de Eficacia protectora. Diseño Fase III de evaluación de vacuna.**

<b>Título: Eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños impedidos físicos y mentales. Seguimiento hasta 14 años después del comienzo de la vacunación.</b>							
<b>Objetivo:</b> Determinar la eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños impedidos físicos y mentales.							
<b>Población estudiada:</b> Niños impedidos físicos y mentales recluidos en Hogares de Impedidos físicos y mentales del municipio Cerro en Ciudad de la Habana							
<b>Ensayo</b> a doble ciego. <b>Esquema:</b> 0, 1 y 6 meses							
Fecha de realización	Edad años	Voluntarios	Tamaño Muestra	Grupos del estudio y no. Voluntarios	Control	Dosis	Extracciones
1991-2005	6-14	100	63	A:33 niños B: 30 niños	Vacuna cubana (dosis 10µg)	A: 10 µg de HBsAg B: 5 µg de HBsAg	60 días, 210 días, 365 días, 3, 4, 10 y 14 años

**Tabla 5. Estudio de Efectividad. Diseño Fase IV de evaluación de vacunas.**

<b>Título: Efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al HBsAg.</b>							
<b>Objetivo:</b> Evaluar la efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al HBsAg							
<b>Población estudiada:</b> Niños hijos de madres positivas al HBsAg de todo el país.							
<b>Esquema</b> 0, 1, 2 y 12 meses							
<b>Fecha de realización</b>	<b>Edad</b>	<b>Voluntarios</b>	<b>Tamaño Muestra</b>	<b>Grupo del estudio y no. voluntarios</b>	<b>Control</b>	<b>Dosis</b>	<b>Extracciones</b>
1992-2006	Recién nacidos	510	510	510 niños	Cohorte histórica de niños infectados hijos de madres positivas al HBsAg	10 µg de HBsAg Vacuna cubana	7 meses de edad
<b>Título: Seroprevalencia de los títulos de anticuerpos contra el virus de la hepatitis B en niños cubanos de 1 a 5 años de edad</b>							
<b>Objetivo</b> Evaluar la efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños cubanos de 1 a 5 años de edad siguiendo las siguientes tareas:							
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluación del grado de protección en que se encuentran los niños cubanos de 1 a 5 años de edad a quienes se le ha aplicado de forma masiva la vacuna cubana contra la hepatitis B desde 1992.</li> <li>• Evaluación del tiempo en que se mantienen niveles de anti-HBs protectores en los individuos después de vacunados.</li> </ul>							
<b>Población estudiada:</b> niños de 1 a 5 años de todo el país							
<b>Esquema</b> 0, 1 y 6 meses							
<b>Fecha de realización</b>	<b>Edad años</b>	<b>Voluntarios</b>	<b>Tamaño Muestra</b>	<b>Grupo del estudio y no. Voluntarios</b>	<b>Control</b>	<b>Dosis</b>	<b>Extracciones</b>
1998	1 a 5	3144	3130 Nacional	Grupo único de 3144 niños de 1 a 5 años de edad	No	10 µg de HBsAg Vacuna cubana	Una a cada niño de 1, 2, 3, 4 y 5 años.

### **3.3. Selección de los sujetos**

#### **3.3.1. Criterios de inclusión**

- Participación de forma voluntaria (firma del Consentimiento Informado por los padres, tutores o adultos según correspondió).
- Personas con historia y examen clínico normales. En caso de los ancianos existió una proporción que por razones lógicas de su edad, padecían algún grado de incapacidad física o enfermedades crónicas que no invalidaban su participación en el estudio.
- Ausencia en suero sanguíneo de HBsAg o anti-HBs en los estudios de Inmunogenicidad (Fase II) y en el estudio de Eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños impedidos físicos y mentales. Seguimiento hasta los 14 años después del comienzo de la vacunación.
- Madres positivas al HBsAg en el estudio de Efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al HBsAg.
- Madres negativas al HBsAg en el momento del parto en el estudio de Seroprevalencia de títulos de anticuerpos contra el virus de la hepatitis B en niños cubanos de 1 a 5 años de edad.
- No haber sido vacunado anteriormente contra la hepatitis B en los estudios de inmunogenicidad
- Haber sido vacunado al nacer contra la hepatitis B en los estudios de Efectividad (Fase IV).
- El resto de las características particularidades para la inclusión en cada estudio se detallan en el acápite **3.2.3**

#### **3.3.2. Criterios de exclusión**

- Enfermedad hepática aguda o crónica.
- Presentar enfermedad infecciosa aguda en el momento de aplicación de la vacuna.
- Presentar antecedentes de tratamiento inmunosupresivo, inmunodeficiencias y enfermedades del sistema hematopoyético.
- Referir hipersensibilidad al timerosal.
- Personas alérgicas.

- Embarazo.

### **3.3.3. Criterios de salida de los estudios después de la inclusión**

- El abandono de los participantes por decisión propia o de padres o tutores.
- Si se observaran reacciones muy severas o intolerables como: temperatura superior a 40<sup>0</sup> Celsius, colapso, shock, broncoespasmo, edema de la glotis, convulsiones o algún signo y síntoma neurológicos tras la administración de alguna dosis de vacuna.
- Aparición de algún criterio de exclusión.

### **3.3.4 Cálculo del tamaño de muestra y descripción de los métodos de aleatorización**

Los tamaños de muestras de los grupos fueron calculados suponiendo diferencias en las proporciones de seroprotección, similares a los resultados obtenidos con otras vacunas ya registradas según el tipo de estudio que abordamos en esta tesis. Para ello se utilizaron las fórmulas usuales para hallar tamaños de muestras para comparar proporciones con una confiabilidad del 95% y una potencia del 80%. El estudio de inmunogenicidad de la vacuna Heberbiovac HB realizado en ancianos se realizó con el universo completo de las personas mayores de 65 años de la institución de salud seleccionada. El estudio de efectividad de la vacuna en hijos de madres positivas al HBsAg, se realizó en las condiciones del PNI y se recibieron en el Laboratorio de hepatitis virales del IPK todas las muestras de suero de los niños procedentes de todo el país, por lo que en estos dos últimos estudios no fue necesario realizar cálculo de muestras ni aleatorización. En el estudio de seroprevalencia de anti-HBs en niños cubanos de 1 a 5 años, la muestra se seleccionó por medio de un diseño por conglomerados, teniendo como unidad mínima el área de salud y todas tuvieron la misma oportunidad de ser seleccionadas. Finalmente se escogieron aleatoriamente las áreas de salud que permitieron una representatividad nacional. De las áreas de salud se seleccionaron médicos de familia. El tamaño muestral se completó, según la cantidad de médicos de familia y los niños que estos debían reclutar, según los cálculos realizados. Este diseño muestral hizo que la porción de la población de niños tomada para el estudio fuera representativa en el marco nacional.

La aleatorización de los sujetos y su asignación a los grupos del estudio en los ensayos que así se requirió, se realizó al azar, por un bioestadístico ajeno a las investigaciones con el empleo del Paquete de Programas Epi Info, versión 6.04, previa fijación del sexo. Los códigos de los estudios estuvieron bajo la custodia del bioestadístico ajeno a las investigaciones, el cual garantizó la confidencialidad de los datos. Se guardaron copias de los mismos en la Dirección de IPK y en el Centro Promotor (CIGB).

### 3.4. Vacunación

#### 3.4.1 Esquemas de vacunación utilizados según los estudios

**Tabla 6. Esquemas de vacunación utilizados según los estudios**

DOSIS				
	PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA	
<b>ESQUEMA 0, 1 y 6 meses</b>	Tiempo 0	Un mes después de aplicada la primera dosis	Seis meses después de aplicada la primera dosis	
	PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA	REACTIVACION
<b>ESQUEMA 0, 1, 2 y 12 meses</b>	Tiempo 0	Un mes después de aplicada la primera dosis	Un mes después de aplicada la segunda dosis	A los 12 meses de aplicada la primera dosis

#### 3.4.2. Productos vacunales utilizados según los estudios

Se empleó la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B (Heberbiovac-HB) del CIGB de la Habana Cuba. (Anexo 7, Tabla 7). Para el estudio de Comparación de la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B con la obtenida con una vacuna plasmática en adultos sanos se utilizó como control, la vacuna plasmática contra la hepatitis B Hevac- B de Pasteur Merieux Connaught, Francia.

#### 3.4.3. Vía de administración, dosis, frecuencia y duración de la vacunación

La vía de administración de la vacuna fue la intramuscular para todos los estudios. En los niños recién nacidos las vacunas se aplicaron a nivel de la cara antero lateral del muslo izquierdo. En los niños pre-escolares, escolares, adultos y ancianos la aplicación fue siempre a nivel de la inserción del músculo deltoides izquierdo. En el estudio de Comparación de la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B con la obtenida con una vacuna plasmática en adultos sanos, las vacunas plasmática y cubana fueron aplicadas en las inserciones de los músculos deltoides



derecho e izquierdo respectivamente. La concentración de antígeno, frecuencia y duración de los tratamientos están en relación a los objetivos de cada estudio y se detallan en el acápite **3.2.3**.

#### **3.4.4. Medidas que se tomaron para el control del cumplimiento de la vacunación**

Se confeccionaron listados con los nombres de todos los sujetos participantes en los estudios, que contenían además, del nombre y la edad de los voluntarios, el horario y fecha de administración del producto y código de identificación lo cual fue registrado por los investigadores principales.

La marcha y calidad de los estudios fue controlada por los monitores del CIGB e investigadores principales directamente en los vacunatorios y mediante visitas periódicas durante la ejecución de los estudios. En ausencia de las personas antes mencionadas, el control se siguió por el resto de los investigadores que participaron en los estudios.

#### **3.4.5. Causas de interrupción de la vacunación**

La vacunación se interrumpiría si después de la primera o segunda dosis se presentaran reacciones adversas severas.

#### **3.4.6. Reglas para el uso de tratamientos concomitantes**

Se recomendó no administrar gammaglobulinas, medicamentos inmunosupresores, e inmunomoduladores en general. En los casos que fue necesario su empleo en beneficio de los individuos, se consideró desviación de los protocolos y los sujetos se excluyeron de los estudios.

### **3.5. Evaluación de la inmunogenicidad**

#### **3.5.1. Principales variables independientes**

- Edad
- Sexo
- Vía de administración
- Dosis del producto utilizado
- Número de dosis aplicadas
- Tiempo de vacunado

### **3.5.2. Principales variables dependientes**

- Título de anticuerpos contra el antígeno de superficie del VHB (anti-HBs) en Unidades Internacionales por litro (UI/l).
- Porcentaje de seroprotección (título  $\geq 10$  UI/l) (André, 1990)

### **3.5.3. Parámetros utilizados para medir los efectos del inmunógeno**

Los parámetros que se evaluaron fueron la seroprotección (títulos  $\geq 10$  UI/l). El grado de respuesta inmune: (No protegido: anti-HBs  $<10$  UI/L), (Normo respuesta: anti-HBs entre 10 UI/L y 99,9 UI/L), (Buena respuesta: anti-HBs entre 100UI/L y 999,9UI/L) e (Hiperrespuesta: anti-HBs  $\geq 1000$ UI/L) y la MGT de anti-HBs y sus intervalos de confianza al 95%. En todos los casos se empleó una  $p < 0,05$  para determinar la significación estadística de las diferencias.

### **3.5.4. Toma y procesamiento de las muestras de sangre y periodicidad de las mediciones**

Las muestras de sangre fueron obtenidas por técnicos y enfermeras entrenados en la extracción de sangre a niños, adultos y ancianos y con el empleo de material estéril adquirido para la investigación. Estas muestras fueron enviadas y entregadas en el Laboratorio Nacional de Referencia de hepatitis virales del IPK, donde se procesaron para la extracción del suero para la realización de las determinaciones serológicas de los estudios, y en el caso del estudio de seroprevalencia de los títulos de anti-HBs en niños cubanos de 1 a 5 años de edad, las muestras se procesaron en el Laboratorio de Hepatitis del Centro de Inmunoensayo (CIE) de Sancti Spíritus y se siguieron todos los pasos descritos anteriormente para el resto de los estudios.

En todos los grupos del estudio la muestra de sangre fue extraída un mes después de la administración de cada dosis de vacuna y las periodicidades de las mediciones estuvieron en relación a los objetivos de cada estudio. En el esquema 0, 1 y 6 meses, las extracciones fueron a los (60 días, un mes después de la aplicación de la segunda dosis); a los (210 días, un mes después de la aplicación de la tercera dosis) y para el esquema 0, 1, 2 y 12 meses, se extrajeron las muestras a los (60 días, un mes después de la aplicación de la segunda dosis); a los (90 días, un mes después de la aplicación de la tercera dosis); (360 días, antes de la aplicación de la cuarta dosis de refuerzo) y a los (13

meses, un mes después de la aplicación de la cuarta dosis en el estudio comparativo de la vacuna recombinante Heberbiovac HB y la vacuna plasmática Hevac B, donde se inoculó una dosis de refuerzo de la Heberbiovac HB en adultos primovacunados con la vacuna plasmática Hevac B ). En los estudios que se realizaron extracciones después de los períodos de tiempo antes expresados, estos se detallan en el acápite 3.2.3.

### **3.5.5. Descripción de las pruebas especiales a emplear para el diagnóstico virológico de antígenos y anticuerpos de la hepatitis B de los estudios.**

Para la realización de estas investigaciones se emplearon juegos diagnósticos de la firma comercial Organón Teknika, Holanda y producidos por el CIE de la Habana, Cuba.

#### **3.5.5.1. Pruebas especiales para la detección del HBsAg y Anti-HBs, producidas por la casa comercial Organón Teknika, Holanda.**

##### **Principio y/o fundamentación de las técnicas:**

**Hepanostika HBsAg** es un método ELISA basado en el principio de Sandwich de un solo paso. El anti-HBs marcado con peroxidasa de rábano picante actúa como el conjugado, mientras que la tetrametilbencidina (TMB) y el peróxido actúan como sustrato. Al completar el análisis, el desarrollo de color indica la presencia de HBsAg, mientras que su ausencia o un débil desarrollo del color sugieren la ausencia de HBsAg. Los pocillos microelisas están recubiertos con anti-HBs (monoclonal de murino). La muestra y el control adecuado con HBsAg se incuban en los pocillos microelisa, el conjugado forma un complejo anticuerpo en fase sólida/HBsAg/anticuerpo marcado con la enzima. Tras el lavado y la incubación con el sustrato TMB, se produce un color azul. La reacción enzimática se detiene mediante la adición de una solución de ácido sulfúrico, que provoca que el color cambie a amarillo. Cuando el HBsAg está presente en la muestra, se desarrolla un color intenso. Sin embargo, si la muestra no contiene HBsAg, no aparece coloración o es muy débil, tras la adición del sustrato. Dentro de ciertos límites, la cantidad de HBsAg en la muestra es proporcional a la intensidad de la coloración. Un resultado positivo debe confirmarse utilizando el estuche **Hepanostika HBsAg confirmatorio**.

**Hepanostika anti-HBs** es un estuche diagnóstico para la detección de anticuerpos al antígeno de superficie del virus de hepatitis B (anti-HBs) en suero o plasma humano.

La prueba es un ELISA basado en el principio de Sandwich, los pocillos de las tiras de poliestireno están recubiertos con HBsAg, que constituye el antígeno en fase sólida. La muestra se incuba en uno de estos pocillos, si está presente en la muestra el anti-HBs se unirá al antígeno en fase sólida; a continuación se añade HBsAg marcado con la enzima peroxidasa de rábano picante (HRP). En caso de una reacción positiva el antígeno marcado se une al complejo de anti-HBs / antígeno en fase sólida que se haya formado anteriormente. La incubación con sustrato enzimático produce un color azul en el pocillo de la prueba, que se vuelve amarillo cuando se detiene la reacción con ácido sulfúrico; si la muestra no contiene anti-HBs, entonces el antígeno marcado no puede unirse específicamente y solo se desarrolla en último término una leve coloración.

Al analizar diluciones de una muestra positiva, puede calcularse la concentración de anti-HBs, utilizando como diluyente el suero control negativo o una mezcla de sueros que deben ser negativos frente a HBsAg y anti-HBs.

#### **Interpretación de los resultados:**

Se calcula el valor de corte, siendo una muestra positiva si la absorbancia de la muestra es igual o mayor al valor de corte, una muestra es negativa si dicha absorbancia es menor al valor de corte.

Cálculo de la concentración de anti-HBs: utilizar las absorbancias medias encontradas en los controles negativos, positivos bajos y positivos altos para construir la curva de calibración; la concentración de la anti-HBs de la muestra diluida se obtiene mediante la interpolación lineal.

#### **3.5.5.2. Pruebas especiales para la detección del HBsAg y anti-HBs producidos por el Centro de Inmunoensayo de la Habana, Cuba**

##### **Determinación del HBsAg**

##### **UMELISA HBsAg (Monoclonal).**

Es un análisis inmunoenzimático tipo Sandwich, en el cual se utiliza como fase sólida una placa de UltramicroElisa (10 microlitros por pocillo) revestida con anticuerpos monoclonales de ratón de alta afinidad dirigidos al HBsAg.

Las muestras se incuban por duplicado en los pocillos de la placa y los anticuerpos en su superficie capturan al HBsAg si este se encuentra presente. A continuación, previo

lavado que elimina componentes no fijados, se añade Anti HBs como conjugado con fosfatasa alcalina. En caso de reacción positiva este anticuerpo marcado se unirá al complejo formado previamente. Al añadir un sustrato fenorigénico este será hidrolizado y la intensidad de la fluorescencia emitida permitirá detectar la presencia del HBsAg en la muestra.

### **Confirmatorio del HBsAg**

#### **UMELISA -HBsAg Confirmatorio**

Se basa en el principio de neutralización., mediante el cual una muestra repetidamente positiva reaccionará con un suero neutralizante (suero de conejo Anti HBs positivo) y como referencia con un suero control, libre de Anti HBs (suero de conejo normal). Los anticuerpos en exceso neutralizarán los determinantes antigénicos de la muestra, lo que será demostrativo por una disminución significativa de la señal de fluorescencia con respecto a la muestra tratada con el reactivo control.

Para su realización, este ensayo necesita del juego de reactivos UMELISA HBs.

### **Determinación del anti-HBs**

#### **UMELISA Anti-HBs**

Se utiliza para la determinación cuantitativa de Anti HBs en suero humano. La prueba se efectúa tomando como base una reacción inmunoenzimática donde el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), suministrado con los reactivos, reacciona con los anticuerpos monoclonales que recubren las placas de ultramicroELISA; la unión del HBsAg se evidencia por la reacción sucesiva de un conjugado Anti HBs/ fosfatasa alcalina y un sustrato cuya hidrólisis genera un producto fluorescente. Las muestras se preincubaban con el HBsAg, si estas contienen anticuerpos Anti HBs, ellos bloquearán determinantes antigénicos del HBsAg, de manera que la reacción se inhibe y la reducción de la señal fluorescente será proporcional a la concentración de Anti HBs presente en la muestra.

Para la utilización de los juegos de reactivos anteriormente descritos, se empleó un equipo SUMA 321 y un paquete de programas específicos para cada juego (UMELISA HBsAg (monoclonal); (UMELISA HBsAg Confirmatorio;) y UMELISA anti-HBs), los cuales realizaron la lectura, validación e interpretación de los resultados.

**3.5.5.3. Estudios donde se emplearon estuches diagnósticos de la casa comercial Órganón Teknika, Holanda para la detección de HBsAg y para cuantificación de anti-HBs:**

- Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños. pre-escolares; escolares de primaria y de secundaria básica.
- Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en ancianos.
- Eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños impedidos físicos y mentales. Seguimiento hasta 14 años después del comienzo de la vacunación.
- Comparación de la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B con la obtenida con una vacuna plasmática en adultos sanos.

**3.5.5.4. Estudios donde se emplearon estuches diagnósticos del CIE para la detección de HBsAg y para cuantificación de anti-HBs:**

- Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños escolares de 6 a 9 años de edad.
- Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en adultos jóvenes.
- Efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al HBsAg.
- Seroprevalencia de los títulos de anticuerpos contra el virus de la hepatitis B en niños cubanos de 1 a 5 años de edad.

**3.6. Procedimiento para la recolección y manejo de la información**

Se confeccionaron bases de datos para la introducción de los datos primarios de los diferentes estudios por los investigadores participantes, pero solamente los investigadores responsables de cada estudio confeccionaron el registro de los cambios o anulaciones que se produjeron.

Se tomaron las precauciones adecuadas para que cualquier corrección que hubiese que realizar en la planilla del vacunado no indujera a confusión con los datos originales,

introduciéndose los datos corregidos con los motivos de la corrección, así como la fecha e iniciales del investigador responsable del estudio objeto de la enmienda realizada.

### **3.7. Procesamiento de la información**

El procedimiento de recogida de datos primarios se realizó en los vacunatorios, consultorios de médicos de familia y diferentes instituciones donde se efectuaron las vacunaciones por parte de personal facultativo y los investigadores responsables de los estudios del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”.

Los datos primarios fueron organizados, tabulados y procesados en microcomputadoras personales para lo cual se emplearon los programas estadísticos Epi Info, versión 6,04; Epi Info 2002, Microsoft Office Word 2003, Microsoft Office Excel 2003, Microsoft Office Power Point 2003.

Los análisis y los informes de los resultados de las investigaciones se realizaron de conjunto entre los investigadores responsables y los participantes de las diferentes instituciones involucradas en los estudios.

### **3.8. Estadística**

#### **Pruebas Estadísticas empleadas**

#### **Estudios Fase II (Inmunogenicidad)**

Para el cálculo de las diferencias de porcentajes se emplearon las Pruebas no Paramétricas Test de comparación de proporciones y el Test exacto de Fisher. La comparación entre dos medias se realizó mediante las Pruebas Paramétricas, Prueba t de Student y cuando fue necesario la comparación de más de dos medias se empleó el Análisis de Varianza por el método Last Significant Difference (LSD). En todos los casos se utilizó una  $p < 0,05$  para determinar la significación estadística de las diferencias.

**Estudio de Fase III (Eficacia protectora):** No fue necesario emplear ninguna prueba estadística, pues la Eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños impedidos físicos y mentales fue del 100,0% como se explica en la discusión de ese estudio.

#### **Estudios de Fase IV (Efectividad):**

Estudio de Efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al HBsAg.

Se emplearon las siguientes fórmulas de Greenwood y Yule (Orenstein et al., 1988)

$$VE (\%) = \frac{TANV - TAV}{TANV} \times 100$$

VE= Efectividad vacunal

TANV= Tasa de ataque en los individuos no vacunados.

TAN = Tasa de ataque en los individuos vacunados.

Donde la Efectividad de la vacuna es el porcentaje de reducción en la incidencia de la infección-enfermedad atribuible a la vacunación.

Para el cálculo de la tasa de ataque en los no vacunados (TANV) (controles) se tuvo en cuenta la tasa de infección histórica entre los no vacunados (60%, 70%, 80% y 90% de riesgo), que es una forma adecuada desde el punto de vista estadístico para calcular la efectividad de una vacuna, pues actualmente en el mundo por razones ético-sociales no se deben dejar personas sin vacunar cuando aparece un inmunobiológico que les puede prevenir o curar una dolencia y toda la población posible debe beneficiarse del producto. Esta forma de calcular la eficacia protectora de la vacuna fue utilizada para la evaluación de la vacuna recombinante contra la hepatitis B (Engerix B de la firma Smith Kline Biologicals) licenciada desde 1986. Además actualmente en el mundo es fuertemente cuestionado desde el punto de vista ético, el uso de placebos para la investigación biomédica en seres humanos.

Para evaluar la inmunogenicidad se calcularon los porcentajes de seroprotección, el grado de respuesta inmune y la MGT y los intervalos de confianza al 95% en el grupo de niños negativos al HBsAg, según extracción a los 7 meses.

#### **Estudio de Seroprevalencia de los títulos de anticuerpos contra el virus de la hepatitis B en niños cubanos de 1 a 5 años de edad.**

La efectividad de una vacuna puede medirse epidemiológicamente por comparación de los riesgos de la enfermedad en vacunados y no vacunados y también, por métodos serológicos cuando existe una correlación serológica para la protección clínica.

La efectividad en este estudio se calculó por métodos serológicos pues en el caso de la vacuna anti-hepatitis B existe una correlación serológica para la protección clínica pues se conoce, que el nivel de anti-HBs protectores es de  $\geq 10$  UI/L (André, 1990). Los



resultados se analizaron a nivel nacional. Se realizaron varios análisis; el primero de ellos fue general sin hacer distinción de edad, y el segundo a partir de las divisiones por grupos de edades. Se determinó el porcentaje de seroprotección de forma general para todo el país y por cada grupo de edad y se estableció el grado de respuesta inmune y la MGT y los Intervalos de Confianza al 95% de forma general y por grupos de edad.

### **3.9. Conservación de la información**

Toda la documentación referente a los estudios, así como una alícuota de suero de cada participante, se guardaron durante 15 años en los archivos del IPK y Centro Promotor. Los datos archivados aun se conservan en disquetes, discos y expedientes y están bajo nivel de seguridad y permanecen en el centro patrocinador (CIGB) y el “IPK”.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS

### 4.1. Estudios de inmunogenicidad (Fase II de evaluación de vacunas)

#### 4.1.1. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños pre-escolares; escolares de primaria y de secundaria básica.

Se evidenciaron títulos de anti-HBs protectores en el 100,0% de los niños de los tres grupos a los 60, 210 y 365 días de la aplicación de la primera dosis de la vacuna.

A los 60 días, los títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L no presentaron diferencias significativas entre los grupos ( $p > 0,05$ ). A los 210 días se alcanzó el 100,0% de títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L en todos los vacunados, sin embargo, en el análisis por grupos, los valores de hiperrespuesta fueron de 97,1% y 100,0 % para los niños de 2 a 4 años y los de 9 a 10 años respectivamente mientras que los mayores de 10 años alcanzaron 77,2 % de títulos  $\geq 1000$  UI/L, con diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) también a favor de los menores de 10 años (grupos A y B).

A los 365 días, los títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L en los grupos A, B y C fueron de 96,4%; 91,1% y 66,7 % respectivamente y se mantuvieron las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) a favor de los menores de 10 años y no se evidenciaron diferencias significativas entre los dos grupos menores de 10 años. (Tabla 8)

**Tabla 8. Grado de respuesta inmune en niños según grupos a los 60, 210 y 365 días del comienzo de la vacunación.**

Respuesta UI/L	Grupo A (C. infantil)		Grupo B Esc. primaria		Grupo C Esc. secundaria		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>60 días</b>	<b>n=39</b>		<b>n=51</b>		<b>n=42</b>		<b>n=132</b>	
10-99,9	9	23,1	13	25,5	23	54,7	45	34,1
100-999,9	23	59,0	23	45,1	17	40,5	63	47,7
> 1000	7	17,9	15	29,4	2	4,8	24	18,2
<b>210 días</b>	<b>n=34</b>		<b>n=32</b>		<b>n=35</b>		<b>n=101</b>	
10-99,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
100-999,9	1	2,9	0	0	8	22,8	9	8,9
1000 y+	33	97,1	32	100,0	27	77,2	92	91,1
<b>365 días</b>	<b>n=28</b>		<b>n=45</b>		<b>n=42</b>		<b>n=115</b>	
10-99,9	1	3,6	4	8,9	14	33,3	19	16,5
100-999,9	7	25,0	9	20,0	16	38,1	32	27,8
1000 y+	20	71,4	32	71,1	12	28,6	64	55,7

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

A los 60 días, al comparar las medias geométricas de los títulos de anti-HBs por grupos, se alcanzaron valores 473,8 UI/L, 362,8 UI/L y 125,7 UI/L en los niños de círculo infantil, escuela primaria y secundaria básica respectivamente con diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los grupos, a favor de los menores de 10 años. A los 210 días, al realizar el análisis por grupos, la MGT arroja diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) nuevamente a favor de los menores de 10 años, al alcanzarse títulos de anti-HBs de 12 566,6 UI/L; 17 506,0 UI/L y 5 367,5 UI/L en los niños de los grupos A, B y C respectivamente.

A los 365 días, las MGT disminuyeron a 1 436,1 UI/L; 1 322,7 UI/L y 296,1UI/L para los niños de 2 a 4 años; 9 a 10 años y de 13 a 14 años respectivamente y se mantuvieron las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) a favor de los menores de 10 años, no evidenciándose diferencias significativas en el análisis entre los dos grupos menores de 10 años de edad. Por sexos, sólo se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la MGT a favor del sexo femenino en los niños de secundaria básica en los diferentes periodos de evaluación (Tabla 9).

**Tabla 9. Media geométrica e intervalos de confianza de títulos de anticuerpos en niños según grupos y sexos a los 60, 210 y 365 días del comienzo de la vacunación.**

Grupos	L. Inf.	Media UI/L	L. sup.	L. inf.	Media UI/L	L. Sup.	Total
<b>60 días</b>							
	<b>Masculino</b>			<b>Femenino</b>			<b>Total</b>
<b>A</b>	207,0	396,5	759,6	258,2	561,2	1 219,5	473,8
<b>B</b>	234,7	473,3	954,3	175,5	301,2	517,0	362,8
<b>C</b>	44,4	87,9	173,7	87,1	160,4	295,2	125,7
<b>210 días</b>							
<b>A</b>	6 233,5	11 414,0	20 897,0	7 641,8	13 788,0	24 859,0	12 566,6
<b>B</b>	11 717,0	19 910,0	33 826,0	10 297,0	15 836,0	24 343,0	17 506,0
<b>C</b>	1 407,8	3 042,0	6 572,8	4 346,8	7 511,5	12 979,0	5 367,5
<b>365 días</b>							
<b>A</b>	602,2	1 376,0	3 143,8	376,5	1 513,2	6 083,2	1 436,1
<b>B</b>	431,8	1 087,5	2 798,8	960,3	1 500,1	2 343,0	1 322,7
<b>C</b>	79,2	169,8	363,9	259,8	479,1	883,4	296,1

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

#### 4.1.2. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en ancianos.

Debe destacarse que a los 60 días, el 47,1 % (16/34) de los ancianos evaluados lograron títulos de anti-HBs  $\geq$  10 UI/L, y a los 210 y 365 días, el 100,0 % de los vacunados (28 y 26 ancianos respectivamente) mantuvo niveles protectores de anti-HBs.

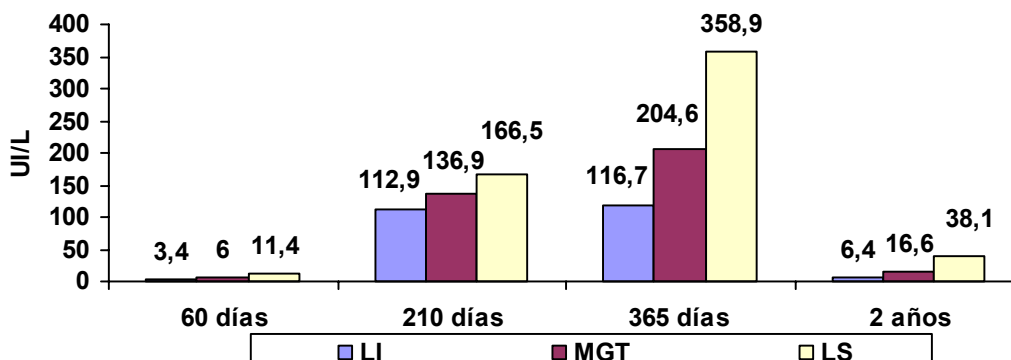
A los dos años, la persistencia de títulos de anti-HBs protectores fue de 71,4 % (15/21). En la Tabla 10 se aprecian los valores de anti-HBs según grupos de títulos a los 60, 210, 365 días y dos años. El porcentaje de ancianos buenos respondedores, a los 210 días fue de 78,6%; mientras que a los 365 días se logró 53,8 % y a los dos años los valores descendieron, pero aun conservando niveles de seroprotección en los vacunados.

**Tabla 10. Grado de respuesta inmune en ancianos a los 60, 210 y 365 días y 2 años del comienzo de la vacunación.**

Anti-HBs (UI/L)	60 días		210 días		365 días		2 años	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<1	16	47,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
1-9,9	2	5,9	0	0,0	0	0,0	6	28,6
10-99,9	13	38,3	6	21,4	10	38,5	11	52,4
100-999,9	3	8,8	22	78,6	14	53,8	4	19,0
1000 y+	0	0,0	0	0,0	2	7,7	0	0,0
<b>Total</b>	34	100,0	28	100,0	26	100,0	21	100,0

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

En la Figura 10 se aprecia que a los 60 días, los valores de la MGT en ancianos aún no alcanzan el valor mínimo protector, sin embargo a los 210 y 365 días de comenzada la vacunación, los resultados evidenciaron cifras 13 y 20 veces el valor mínimo protector durante esos periodos evaluativos respectivamente, para descender a 16,6 UI/L a los dos años de completado el esquema primario de vacunación



**Figura 10. Media geométrica e intervalos de confianza de los anti-HBs en ancianos a los 60, 210 y 365 días y 2 años del comienzo de la vacunación MGT en UI/L**

Fuente Laboratorio Nacional hepatitis virales IPK

#### 4.1.3. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños escolares de 6 a 9 años de edad.

De 167 niños evaluados a los 60 días, seroconvirtieron con títulos protectores el 88,9 % del grupo A (10 µg), el 87,7 % del grupo B (5 µg) y el 79,4 % del C (2,5µg); sin que se encontraran diferencias significativas entre los grupos y sexos ( $p > 0,05$ ). A los 210 días se evaluaron 180 muestras y la seroprotección alcanzó 100,0 % en los grupos A y C, y 98,3 % en el grupo B ( $p > 0,05$ ) (Tabla 11).

**Tabla 11. Porcentaje de seroprotección en niños escolares según grupos y dosis de vacuna aplicadas a los 60 y 210 días del comienzo de la vacunación.**

Grupos	60 días (2 dosis)			210 días (3 dosis)		
	n	Evaluidos	%	n	Evaluidos	%
10 µg (A)	63	56	88,9	62	62	100,0
5 µg (B)	65	57	87,7	60	59	98,3
2,5 µg (C)	68	54	79,4	59	59	100,0

$p > 0,05$

$p > 0,05$

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

La proporción de vacunados con títulos  $\geq$  a 100 UI/L a los 60 días fue de 71,5 % con dosis de 10  $\mu$ g; y 46,2 % y 32,4 % con 5  $\mu$ g y 2,5  $\mu$ g, respectivamente ( $p < 0,05$ ); mientras que a los 210 días se lograron cifras de 100,0 % y 96,6 % con dosis de 10  $\mu$ g y 5  $\mu$ g respectivamente y sólo 81,4 % con 2,5  $\mu$ g, sin diferencias significativas entre los grupos A y B ( $p > 0,05$ ), pero sí entre los grupos A y C y entre B y C ( $p < 0,05$ ) (Tabla 12).

**Tabla 12. Grado de respuesta inmune en niños escolares según grupos y dosis a los 60 y 210 días del comienzo de la vacunación.**

Respuesta UI/L	Grupo A (10 $\mu$ g)		Grupo B (5 $\mu$ g)		Grupo C (2,5 $\mu$ g)	
	No	%	No	%	No	%
<b>60 días</b>	<b>n=63</b>		<b>n=65</b>		<b>n=68</b>	
<10	7	11,0	8	12,5	14	20,6
10-99,9	11	17,5	27	41,5	32	47,0
100-999,9	34	54,0	25	38,5	22	32,4
1000 y+	11	17,5	5	7,7	0	0
<b>210 días</b>	<b>n=62</b>		<b>n=60</b>		<b>n=59</b>	
<10	0	0,0	1	1,7	0	0,0
10-99,9	0	0,0	1	1,7	11	18,6
100-999,9	16	25,8	11	18,3	28	47,5
1000 y+	46	74,2	47	78,3	20	33,9

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

Las MGT a los 60 días alcanzaron valores por encima de 100 UI/L en el grupo A (136,6 UI/L), sin embargo no fue así para los grupos B y C (77,6 UI/L y 32,1 UI/L respectivamente), No se encontraron diferencias significativas entre los grupos A y B ( $p > 0,05$ ), ni entre B y C ( $p > 0,05$ ), pero sí entre los grupos A y C ( $p < 0,05$ ). (Tabla 13).

A los 210 días se obtuvieron elevadas MGT en los grupos A (2 356,8 UI/L) y B (1 958,9 UI/L), ( $p > 0,05$ ) no así en el grupo C (376,3 UI/L), con diferencias significativas entre los grupos A y C ( $p < 0,05$ ) y entre B y C ( $p < 0,05$ ). Dentro de los grupos no se apreciaron diferencias significativas a favor de uno u otro sexo ( $p > 0,05$ ) ni entre las dosis de 5  $\mu$ g y 10  $\mu$ g, ( $p > 0,05$ ) (Tabla 13). Los valores de los intervalos de confianza al 95 % de los diferentes grupos se pueden apreciar en la Tabla 13

**Tabla 13. Media geométrica e intervalos de confianza de títulos de anticuerpos en niños escolares según grupos y dosis a los 60 y 210 días del comienzo de la vacunación.**

Grupo	60 días (2 dosis)				210 días (3 dosis)			
	n	L. Inf.	Media UI/L	L. sup.	n	L. inf	Media UI/L	L. Sup.
A ( 10 µg)	63	79,7	136,6	234,2	62	650,9	2 356,8	3 364,6
B ( 5 µg)	65	47,6	77,6	126,7	60	203,7	1 958,9	3 188,0
C ( 2,5 µg)	68	20,1	32,1	51,2	59	245,1	376,3	577,9

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

#### 4.1.4. Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en adultos jóvenes.

A los 60 días, mostraron evidencias serológicas de seroconversión con títulos protectores ( $\geq 10$  UI/L) más del 90% de los 243 voluntarios vacunados y no se encontraron diferencias significativas entre los cuatro grupos del estudio ( $p > 0,05$ ).

A los 90 días (un mes después de aplicada la tercera dosis para el esquema 0, 1, 2 y 12 meses), la seroprotección fue cercana al 100,0 % en los 222 evaluados incluidos en todos los grupos investigados ( $p > 0,05$ ) y a los 360 días, los porcentajes de títulos de anti-HBs  $\geq 10$  UI/L, excepto en el grupo de 5 µg, en que se obtuvo 76,6 %, fueron superiores al 90% en los 157 vacunados que formaron los grupos de 10 µg, 15 µg y 20 µg, y no existieron diferencias significativas entre los grupos B, C y D ( $p > 0,05$ ), pero sí entre el grupo de 47 inmunizados del grupo A, con relación el resto los grupos de individuos vacunados a los 360 días del comienzo de la vacunación ( $p < 0,05$ ) (Tabla 14).

**Tabla 14. Porcentaje de seroprotección en adultos jóvenes según grupos y dosis de vacuna aplicadas a los 60, 90 y 360 días del comienzo de la vacunación.**

Grupos	60 días		90 días		360 días	
	n	%	n	%	n	%
5µg (A)	60	95,0	52	100,0	47	76,6
10 µg (B)	65	92,3	57	98,2	57	94,7
15 µg (C)	63	90,5	61	98,4	51	92,2
20 µg (D)	55	96,4	52	100,0	49	91,8

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

La proporción de buenos respondedores a los 60 días, fue superior al 35 % en todos los grupos del estudio ( $p>0,05$ ) y a los 90 días, los niveles de anti-HBs (100-999,9 UI/L) estuvieron en el rango de 54,1 % y 63,5% sin diferencias significativas entre los cuatro grupos ( $p>0,05$ ), mientras que a los 360 días del comienzo de la vacunación se obtuvieron cifras que oscilaron entre 29,7 % con 5 µg; y 61,2 % con la dosis de 20 µg ( $p>0,05$ ) (Tabla 15). A los 90 días se evidenciaron los mayores porcentajes de títulos de anti-HBs con hiperrespuesta lo cual puede apreciarse en la Tabla 15.

**Tabla 15. Grado de respuesta inmune en adultos jóvenes según grupos y dosis a los 60, 90 y 360 días del comienzo de la vacunación.**

Respuesta UI/L	Grupo A (5 µg)		Grupo B (10 µg)		Grupo C (15 µg)		Grupo D (20 µg)	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<b>60 días</b>	<b>n=60</b>		<b>n=65</b>		<b>n=63</b>		<b>n=55</b>	
<10	3	5,0	5	7,7	6	9,5	2	3,6
10-99,9	28	46,7	23	35,4	29	46,1	27	49,0
100-999,9	27	45,0	34	52,3	23	36,5	24	43,7
1000 y+	2	3,3	3	4,6	5	7,9	2	3,7
<b>90 días</b>	<b>n=52</b>		<b>n=57</b>		<b>n=61</b>		<b>n=52</b>	
<10	0	0	1	1,7	1	1,7	0	0,0
10-99,9	13	25,0	7	12,3	8	13,1	2	3,8
100-999,9	30	57,7	36	63,2	33	54,1	33	63,5
1000 y+	9	17,3	13	22,8	19	31,1	17	32,7
<b>360 días</b>	<b>n=47</b>		<b>n=57</b>		<b>n=51</b>		<b>n=49</b>	
<10	11	23,4	3	5,3	4	7,8	4	8,2
10-99,9	20	42,6	20	35,0	19	37,3	9	18,4
100-999,9	14	29,7	32	56,1	26	51,0	30	61,2
1000 y+	2	4,3	2	3,6	2	3,9	6	12,2

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

La MGT y sus intervalos de confianza al 95 % a los 60 días, en todos los grupos, presentan niveles al menos seis veces el valor mínimo protector (10 UI/L) y no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $p>0,05$ ). Las MGT a los 90 días fueron elevadas en los cuatro grupos del estudio, pues con la menor concentración de la vacuna (5 µg), se alcanzaron 273,7 UI/L. Con el incremento de la dosis del inmunobiológico, los niveles de anti-HBs aumentaron hasta lograrse 491,7 UI/L con 20 µg, sin que existieran diferencias significativas entre los grupos ( $p>0,05$ ).



A los 360 días del comienzo de la vacunación, excepto en el grupo de 5 µg, en el que se logró 37,2 UI/L, en el resto de los grupos, las MGT se mantuvieron por encima de 90 UI/L y existieron diferencias significativas sólo entre los grupos de 5 y 20 µg ( $p<0,05$ ) (Tabla 16).

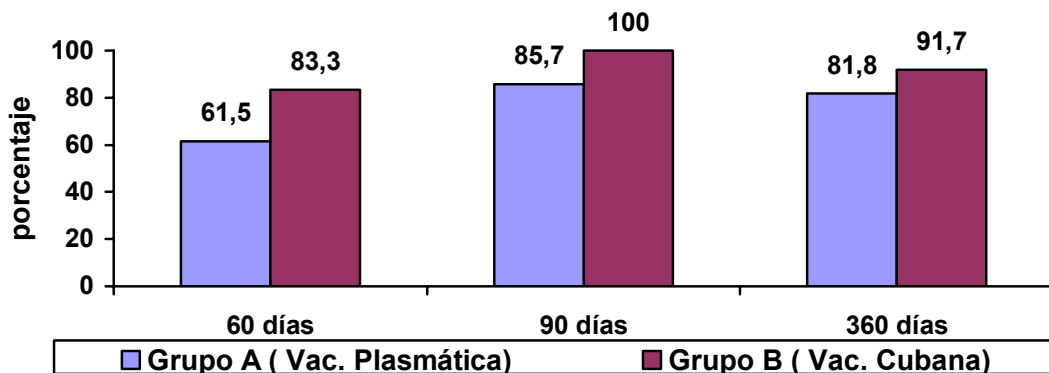
**Tabla 16. Media geométrica e intervalos de confianza de títulos de anticuerpos en adultos jóvenes según grupos y dosis a los 60, 90 y 360 días del comienzo de la vacunación.**

Días	Grupo	L. Inf.	Media UI/L	L. sup.
<b>60</b>	<b>A (5 µg)</b>	42,9	60,8	97,5
	<b>B (10 µg)</b>	49,4	77,7	117,9
	<b>C (15 µg)</b>	37,7	62,2	99,5
	<b>D (20 µg)</b>	54,9	81,9	120,3
<b>90</b>	<b>A (5 µg)</b>	186,8	273,7	395,4
	<b>B (10 µg)</b>	192,5	293,2	441,4
	<b>C (15 µg)</b>	210,6	351,4	492,7
	<b>D (20 µg)</b>	340,4	491,7	692,3
<b>360</b>	<b>A (5 µg)</b>	19,5	37,2	69,4
	<b>B (10 µg)</b>	60,3	94,8	146,9
	<b>C (15 µg)</b>	55,1	90,2	145,5
	<b>D (20 µg)</b>	93,7	157,8	284,3

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

#### **4.1.5. Comparación de la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B con la obtenida con una vacuna plasmática en adultos sanos.**

En las evaluaciones de los 60, 90 y 360 días, los porcentajes de seroprotección fueron superiores en el grupo de adultos vacunados con la vacuna cubana, (A 61,5% y B 83,3%); (A 85,7% y B 100,0%) y 81,8% y B 91,7% para A y B respectivamente, sin diferencias significativas entre los grupos, ( $p:>0,05$ ) (Figura 11).

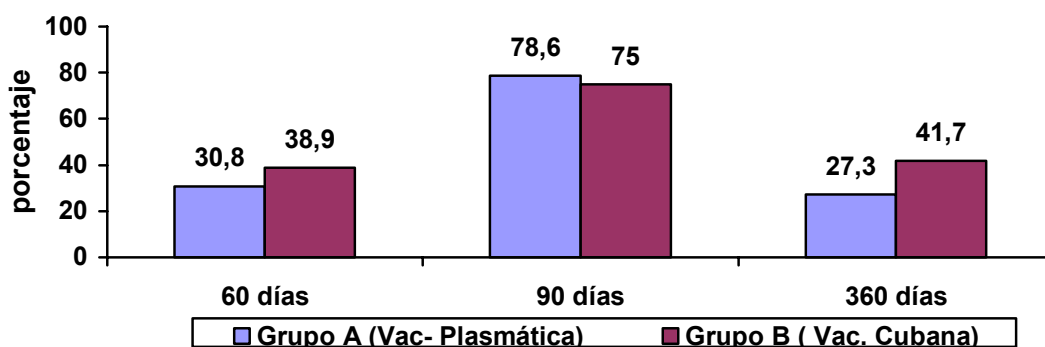


**Figura 11. Comparación de la seroprotección de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B con la obtenida con la vacuna plasmática en adultos según evaluaciones a los 60, 90 y 360 días**

60 días (A, n=13 y B,n=18); 90 días (A, n=14 y B,n=16); 360 días (A, n=11 y B,n=12)

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

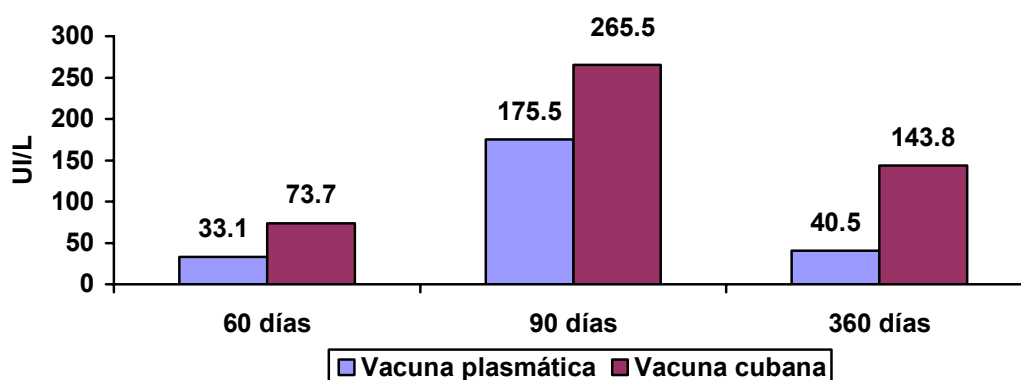
Al analizar los resultados de los vacunados con títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L (Figura 12) por grupos, excepto en la evaluación de los 90 días, en que el grupo A alcanza un valor ligeramente superior al obtenido por el grupo B, este parámetro fue superior en el grupo de sujetos vacunados con la vacuna cubana en el resto de las evaluaciones, pues a los 60 días se alcanzaron 30,8% y 38,9% para los grupos A y B respectivamente, y a los 360 días los valores fueron de 27,3% y 41,7% para A y B respectivamente, aunque no se apreciaron diferencias significativas entre los dos grupos del estudio ( $p>0,05$ ).



**Figura 12. Porcentaje de títulos de anti-HBs  $\geq$  100 UI/L en los grupos A y B a los 60, 90 y 360 días del comienzo de la vacunación.**

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

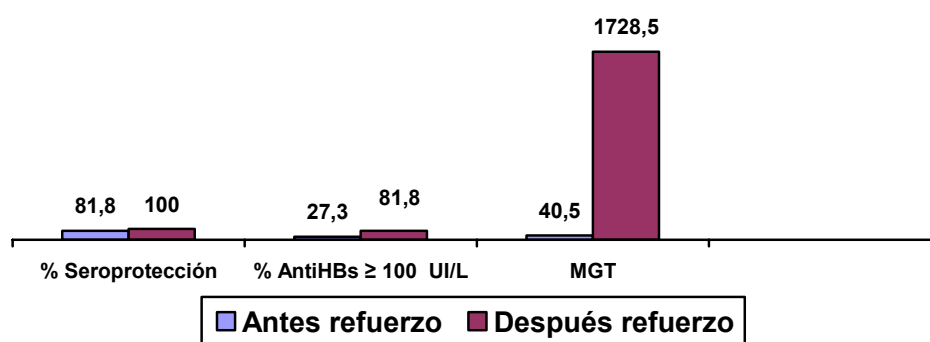
La MGT fue superior con la vacuna cubana en todas las evaluaciones al compararla con la vacuna plasmática (A, 33,1 UI/L y B 73,7 UI/L a los 60 días) (A, 175,5 UI/L y B, 265,5 UI/L a los 90 días) y (A, 40,5 UI/L y B, 143,8 UI/L en la evaluación de 360 días) ( $p > 0,05$ ) (Figura 13).



**Figura 13. Media geométrica de los títulos de anticuerpos en los grupos A y B a los 60, 90 y 360 días del comienzo de la vacunación**

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

A los 13 meses (un mes después de aplicada la dosis de refuerzo con la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en los sujetos previamente vacunados con vacuna plasmática), la seroprotección se elevó de 81,8% a 100,0% ( $p>0,05$ ); los anti-HBs  $\geq 100$  UI/L ascendieron de 27,3% a 81,8% ( $p<0,05$ ) y el incremento de la MGT fue de 40,5 UI/L a 1728,5 UI/L ( $p<0,05$ ) (Figura 14).



**Figura 14. Efecto de una dosis de refuerzo con la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en adultos primovacunados con vacuna plasmática.**

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

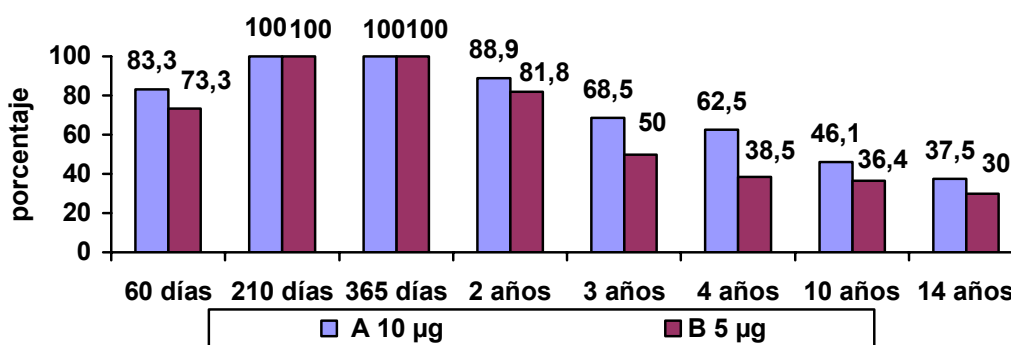
## 4.2. Estudio de eficacia protectora (Fase III de evaluación de vacunas)

### 4.2.1. Eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños impedidos físicos y mentales. Seguimiento hasta 14 años después del comienzo de la vacunación.

A los 60 días en los grupos A (10  $\mu$ g) y B (5  $\mu$ g) se lograron 83,3 % y 73,3 % de niños vacunados con títulos protectores respectivamente ( $p< 0,05$ ).

A los 210 y 365 días de aplicada la primera dosis de la vacuna, los valores de seroprotección alcanzaron el 100,0 % en los dos grupos del estudio. A los dos años, estos valores descendieron a 88,9% y 81,8% en los grupos de 10  $\mu$ g y 5  $\mu$ g respectivamente ( $p> 0,05$ ). A los tres años, los porcentajes de seroprotección fueron de

68,5% en el grupo de 10 µg y de 50% en el grupo de 5 µg ( $p>0,05$ ). Estos valores disminuyeron paulatinamente hasta alcanzar 37,5% y 30% en los grupos A y B respectivamente a los 14 años después del comienzo de la vacunación ( $p>0,05$ ). (Figura 15)



**Figura 15. Porcentaje de seroprotección en niños impedidos físicos y mentales por grupos y dosis a los 60, 210, 365 días, 2, 3, 4, 10 y 14 años del comienzo de la vacunación**

60 días (A, n=36 y B, n=30); 210 días (A, n=23 y B, n=23); 365 días (A, n=31 y B, n=26); 2 años (A, n=27 y B, n=22); 3 años (A, n=16 y B, n=12); 4 años (A, n=16 y B, n=13); 10 años (A, n=13 y B, n=11) y 14 años (A, n=16 y B, n=11)

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

Los títulos de anti-HBs  $\geq$  a 100 UI/L a los 210 días fueron del 95,6 % con la dosis de 10 µg y 65,2 % cuando se emplearon 5 µg ( $p<0,05$ ). Al comparar los porcentajes de títulos anti-HBs  $\geq$  100 UI/L de los grupos de 10 µg y 5 µg a los 365 días del comienzo de la vacunación, los valores descendieron a 67,7% y 19,2 % respectivamente ( $p<0,05$ ). A los dos años el grupo A disminuyó al 40,7% y el B al 31,8% ( $p>0,05$ ). A los tres y cuatro años, el grupo de vacunados con 10 µg evidenció en ambas mediciones, 12,5% de títulos de anti-HBs  $\geq$  a 100 UI/L (Tabla 17).

**Tabla 17. Grado de respuesta inmune en niños impedidos físicos y mentales según grupos a los 210 y 365 días, 2, 3 y 4 años del comienzo de la vacunación**

Respuesta UI/L	Grupo A (10 µg)		Grupo B (5 µg)	
	No	%	No	%
<b>210 días (A=23) (B=23)</b>				
10-99,9	1	4,4	8	34,8
100-999,9	16	69,6	10	43,5
1000 y+	6	26,0	5	21,7
<b>365 días (A, n=31) (B, n=26)</b>				
10-99,9	10	32,3	21	80,8
100-999,9	19	61,3	5	19,2
1000 y+	2	6,4	0	0,0
<b>2 años (A, n=27) (B, n=22)</b>				
<10	3	11,1	4	18,2
10-99,9	13	48,2	11	50,0
100-999,9	9	33,3	7	31,8
1000y+	2	7,4	0	0,0
<b>3 años (A, n=16) (B, n=12)</b>				
<10	5	31,3	6	50
10-99,9	9	56,2	6	50
100-999,9	2	12,5		
<b>4 años (A, n=16) (B, n=13)</b>				
<10	6	37,5	8	61,5
10-99,9	8	50,0	5	38,5
100-999,9	2	12,5		

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

La MGT alcanzó, a los 60 días en los dos grupos del estudio, niveles por encima de 10 UI/L, que es el mínimo protector. En el grupo de 10 µg se alcanzaron 48,4 UI/L y en el de 5 µg, 19,9 UI/L y no se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $p > 0,05$ ). A los 210 días, la MGT aunque presentó diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0,05$ ), se alcanzaron valores elevados en A y en B. A los 365 días, los valores de la MGT descendieron a 139,5 UI/L y 57,3 UI/L en los grupos de 10 µg y 5 µg respectivamente encontrándose diferencias significativas entre los dos grupos del estudio ( $p < 0,05$ ). Finalmente la MGT disminuyó a 50,1 UI/L en el grupo A y a 36,9 UI/L en el B ( $p > 0,05$ ) a los dos años del inicio del esquema primario de vacunación La MGT mantuvo niveles por encima del valor mínimo de protección hasta los cuatro años en el grupo A y hasta los tres años en el grupo B (Tabla 18).

**Tabla 18. Media geométrica e intervalos de confianza de títulos de anti-HBs en niños impedidos físicos y mentales según grupos a los 60, 210 y 365 días, 2, 3 y 4 años del comienzo de la vacunación.**

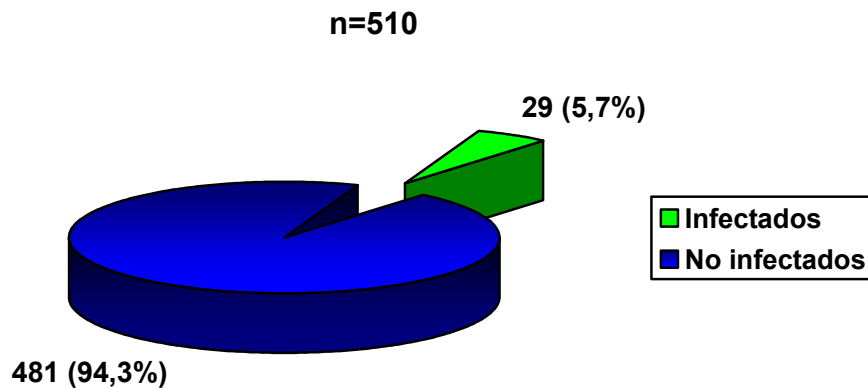
Tiempo de evaluación	Grupo	L. Inf.	Media (UI/L)	L. sup.
60 días	A (10 µg)	24,3	48,4	90,0
	B (5 µg)	9,6	19,9	41,3
210 días	A (10 µg)	358,1	527,7	776,3
	B (5 µg)	178,7	324,7	588,8
365 días	A (10 µg)	101,8	139,5	191,6
	B (5 µg)	42,4	57,3	87,7
2 años	A (10 µg)	24,0	50,1	103,5
	B (5 µg)	13,7	36,9	63,4
3 años	A (10 µg)	11,5	21,1	38,5
	B (5 µg)	6,6	11,1	18,8
4 años	A (10 µg)	11,4	20,9	38,5
	B (5 µg)	6,8	9,9	16,9

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

### 4.3. Estudios de Efectividad (Fase IV de evaluación de vacuna)

#### 4.3.1 Efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al HBsAg

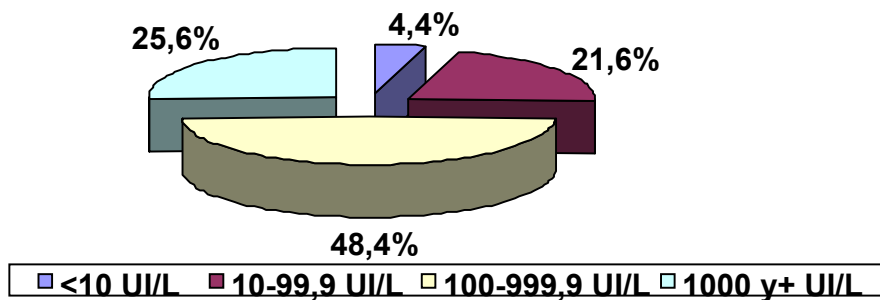
La transmisión perinatal de los niños hijos de madres positivas al antígeno de superficie del virus de la hepatitis B a los siete meses de edad se puede apreciar en la Figura 16 donde 29 de los niños estudiados (5,7%) fueron positivos al marcador de infección antes expresado y el 94,3% (481) de los vacunados resultaron negativos al HBsAg.



**Figura 16 Porcentaje de niños infectados hijos de madres positivas al HBsAg. Evaluación a los 7 meses de edad. Cuba, 1992-2006**

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

En la Figura 17 se puede apreciar el grado de respuesta inmune en los 481 vacunados negativos al HBsAg. El 4,4 % de los niños no quedaron protegidos, el resto (95,6 %) lograron títulos de anti-HBs  $\geq 10$  UI/L. El 48,4 % de los niños fueron buenos respondedores y en el 25,6 % se registró hiperrespuesta.



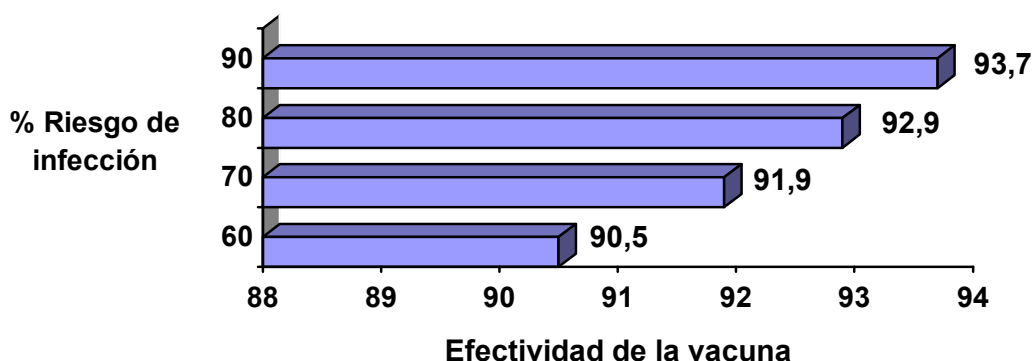
**Figura 17 Grado de respuesta inmune en UI/L en niños negativos al HBsAg a los 7 meses de edad (5 meses después de la aplicación de la tercera dosis)**

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

La MGT encontrada a los siete meses de edad fue de 276,6 UI/L (IC 95%= 230,3 -332,3).



La Figura 18 muestra la efectividad de la vacuna cubana contra la hepatitis B según el porcentaje de riesgo que tienen los neonatos para contraer la infección por el VHB. La Eficacia varió desde 90,5 % (con 60 % de riesgo) hasta el 93,7 % (con un 90 % de riesgo).



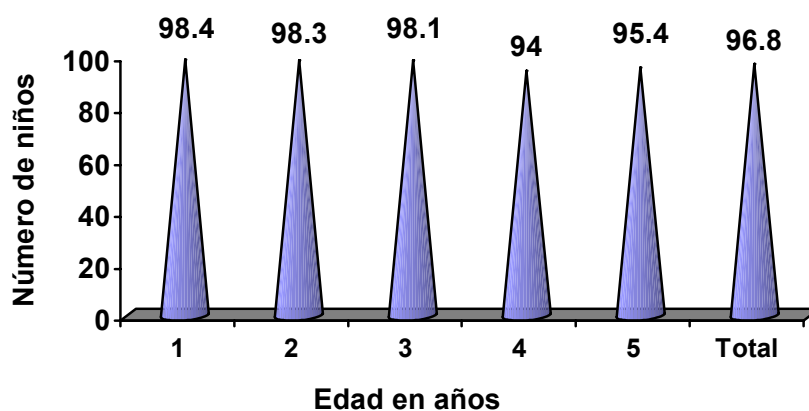
**Figura 18. Efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al HBsAg a los 7 meses de edad**

Fuente Laboratorio nacional hepatitis virales IPK

#### **4.3.2. Seroprevalencia de los títulos de anticuerpos contra el virus de la hepatitis B en niños cubanos de 1 a 5 años de edad.**

##### **Inmunogenicidad a nivel nacional**

El porcentaje de protección de los niños cubanos de 1 a 5 años de edad encontrado en la muestra nacional estudiada fue de 96.8%. (3030/3130) (IC 95%= 95.5 - 97.8) y todos los grupos de edad presentaron porcentajes de protección por encima de 90%. El grupo que menor porcentaje de protección presentó fue el de cuatro años. Solo 100 casos de un universo de 3130 niños presentaron títulos <10 UI/L para un 3,2%, de ellos el 1,3% los constituyen niños de cuatro años que fueron en total 42 casos en este grupo. El 95.4% de los vacunados se mantienen protegidos cinco años después de la aplicación de la última dosis de la vacuna (Figura 19)

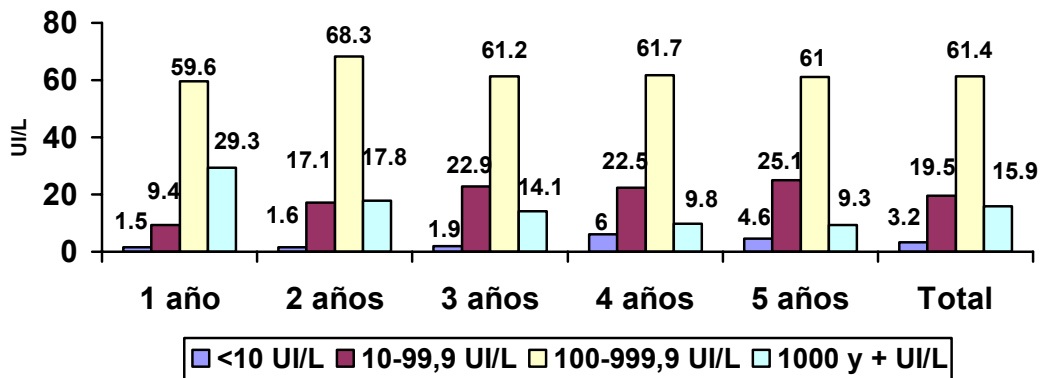


**Figura 19. Porcentaje de seroprotección general acorde a cada grupo de edad en niños cubanos de 1 a 5 años de edad**

Fuente: Laboratorio del CIE de Sancti Spíritus

El 61,4% (1923/3130) y el 15,9% (497/3130) de los títulos de anti-HBs correspondieron a Buenos respondedores e Hiperrespondedores respectivamente. Esto evidencia que cerca del 80% de los niños comprendidos en esta investigación tienen títulos  $\geq$  a 100 UI/L (Figura 20).

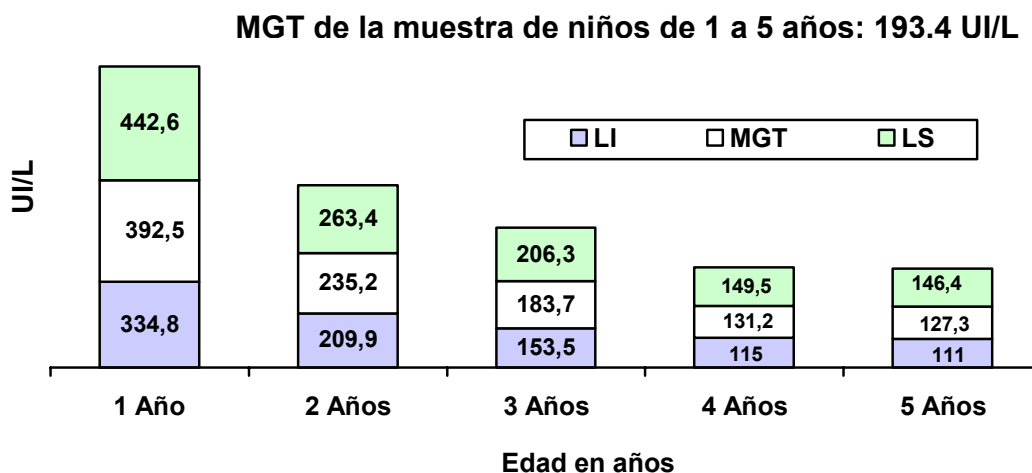
En la Figura 20 se muestra como se comportó el nivel de la respuesta de anti-HBs medida por grupo de edad. Los títulos de anticuerpos se clasificaron en cuatro grupos, de menor a mayor nivel de anti-HBs. En el estudio, el grupo de 10 UI/L a 99,9 UI/L fue aumentando de 1 a 5 años y de la misma forma disminuyó el de  $\geq$  1000 UI/L a medida que aumentó la edad de los niños.



**Figura 20. Grado de respuesta inmune en niños cubanos de 1 a 5 años según grupo de edad**

Fuente: Laboratorio del CIE de Sancti Spiritus

La MGT fue de 193,4 UI/L y superior a 100 UI/L en todos los grupos del estudio. Se observó una disminución de los títulos de anti-HBs a medida que se alejaba el estímulo antigénico de la vacuna en el tiempo. De tal forma la MGT disminuyó gradualmente del grupo de niños de un año al de cinco años de edad. (Figura 21).



**Figura 21. Media geométrica e intervalos de confianza de los títulos de anticuerpos en niños cubanos de 1 a 5 años según grupo de edad**

Fuente: Estudio de Seroprevalencia anti-HBs en niños cubanos 1 a 5 años de edad

## ***CAPÍTULO V. DISCUSIÓN***

### **Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños pre-escolares; escolares de primaria y de secundaria básica**

Los valores de seroprotección, que constituyen una categoría principal en la evaluación de la inmunogenicidad de la vacuna contra la hepatitis B (Zumaesta et al., 1994) fueron del 100,0% en todos los grupos del estudio y durante todos los períodos de evaluación, lo que evidencia óptimos resultados inmunológicos en todos los niños vacunados, aunque los valores de hiperrespuesta son significativamente superiores en los niños menores de 10 años también en los diferentes periodos evaluados.

En un estudio realizado por el profesor Milne y colaboradores (1989) en niños sanos de uno a cinco años de edad en Nueva Zelanda, estos autores lograron una seroprotección del 58,0% a los 60 días con el empleo de una concentración de 10 µg de vacuna recombinante anti-hepatitis B, estos resultados son muy inferiores a los alcanzados en nuestro estudio. En general, ningún estudio de los revisados se queda por debajo del 90 % de seroprotección, y en cuanto a los referidos por André, que son un resumen global de cinco estudios con la vacuna Engerix B, este autor reportó 98,0 % de títulos de anti-HBs  $\geq 10$  IU/L en niños de 0 a 12 años de edad y con el empleo de 10 µg de vacuna (André, 1988). Al comparar nuestros hallazgos con los de Milne y colaboradores en 1989 en los niños menores de 10 años a los 210 días, los porcentajes de seroprotección fueron similares en ambos estudios, pero la proporción de hiperrespondedores fue superior con la vacuna cubana. Sin embargo, en los niños mayores de 10 años, la proporción de hiperrespondedores fue similar en ambos estudios. Al año de la aplicación de la primera dosis de la vacuna, se mantuvo una adecuada respuesta inmune en todos nuestros niños, similar a los resultados obtenidos por Díaz y colaboradores en niños escolares con el empleo de similares esquemas y concentración de vacuna (Díaz et al., 1999) y como ha sucedido en evaluaciones anteriores del estudio, la respuesta fue superior en los niños menores de 10 años.

Antes de analizar la MGT, debemos especificar que este indicador se calculó como la media de todos los voluntarios vacunados, como la calculan la mayoría de los investigadores y no como la MGT de solamente los respondedores a la vacuna. A los 60

días, los resultados de la MGT fueron satisfactorios en todos los grupos de estudio, pero con diferencias significativas a favor de los menores de 10 años. Al comparar las MGT alcanzadas en la investigación a los 210 días, con otras reseñadas en niños con la vacuna HB-Vax-DNA; en ninguna se observó una elevación similar a la nuestra, pues la mayor cifra reportada fue de 3 246 UI/L encontrada por Milne y colaboradores en 1989, mientras que Steven y colaboradores (1987) y Del Cahno y colaboradores (1994) no alcanzaron cifras de 2000 UI/L en estudios realizados en niños con concentraciones de vacuna de 5 y 10 µg respectivamente y esquemas de vacunación similares al nuestro. El grupo de niños 2 a 4 años (Grupo A) logró títulos de anti-HBs de 12 566,6 UI/L mientras en el grupo de 9 a 10 años (Grupo B) la MGT alcanzó valores de 17 506,0 UI/L; resultados que son superiores 3 y 4 veces respectivamente al reporte del resumen de varios estudios de André en 1988 con la aplicación de dosis de 10 µg de la vacuna Engerix B, pues este autor informó cifras de MGT de 4 023 UI/L en los niños de su estudio. Los resultados obtenidos con la vacuna Heberbiovac HB en diferentes estudios han demostrado que la inmunogenicidad que la misma ha generado ha sido similar e incluso superior a los resultados obtenidos con otras vacunas contra la hepatitis B. En tal sentido, el Dr. Eduardo Pentón Arias, del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de la Habana, Cuba (comunicación personal, 19 de abril de 2009) ha señalado que las evidencias experimentales que han avalado estos hallazgos quizás no son completas ni han sido diseñadas específicamente para demostrarlo, pero durante el tiempo se han ido acumulando muchos resultados tanto en el país como en el exterior donde la respuesta inmune de Heberbiovac HB ha sido superior a otras vacunas anti-hepatitis B y entre los elementos que se han señalado para explicar la mayor respuesta de Heberbiovac HB se encuentran los siguientes:

El antígeno proviene de una cepa del CIGB de la levadura *Pichia pastoris* transformada por inserción genómica del gen *s* para expresar el HBsAg recombinante y la mayoría de las otras vacunas HB son derivadas de construcciones plasmídicas en *Saccharomyces cerevisiae*.

En la fabricación de la vacuna se emplea un proceso de purificación suave diseñado para preservar la integridad de la molécula de HBsAg recombinante

La vacuna Heberbiovac HB contiene cantidades significativas de agregados de partículas de HBsAg. Cierta cantidad de las partículas del antígeno que se encuentran en el interior de los agregados no sufren el proceso de desnaturalización inducida por el adyuvante y preservan la integridad estructural del antígeno nativo, capaz de levantar una respuesta inmune más intensa y diversa. Además, la estructura mucho más grande y más rígida de los agregados de partículas que se aprecia en Heberbiovac HB hace que se libere el antígeno más lentamente lo que contribuye también a incrementar su inmunogenicidad.

Otro elemento importante es que en la vacuna Heberbiovac HB se ha evidenciado una fuerte respuesta celular (Galbán y Bravo, 1991; Juliao et al., 2001; González, 2001; ul-Hag et al., 2003; Mumtaz y Siddiq, 2008).

Nuestros hallazgos evidencian una mejor inmunorrespuesta para este preparado vacunal en preescolares y escolares (menores de 10 años) en relación con los adolescentes de 13 y 14 años de edad estudiados, en todas las evaluaciones efectuadas hasta los 365 días del comienzo del esquema de vacunación. Se evidenció una lógica declinación natural de los títulos de anti-HBs a medida que se alejaba el estímulo antigénico de la vacuna con el decursar del tiempo (Andre, 1990; Rendi-Wagner et al., 2000; Hessel et al., 2002), aunque sus niveles permanecieron más de 100 veces el nivel mínimo protector en los menores de 10 años y más de 20 veces en los adolescentes de secundaria manteniéndose una eficiente inmunorrespuesta en los niños estudiados.

En diferentes estudios revisados la inmunorrespuesta está relacionada con la edad y los niveles de anti-HBs alcanzados son menores con el incremento de la edad de los vacunados (Rendi-Wagner et al. 2000; Faustini et al., 2001; Cinza et al., 2007). Es oportuno señalar que en los tres grupos de niños en los diferentes períodos evaluados en el estudio, hasta los 365 días, se evidenció una mayor respuesta inmunológica que en los adultos en los cuales se ha utilizado esta misma vacuna en la evaluación realizada en similares períodos de tiempo, esquema de vacunación empleado y con 20 µg de HBsAg, que es la dosis recomendada por el productor para los adultos (Galbán y Bravo, 1991; Juliao et al., 1991; Faustini et al., 2001)

Por otra parte, en concordancia con datos reportados por otros autores en diferentes ensayos clínicos, el nivel de anticuerpos también fue menor en hombres que en mujeres (Rendi-Wagner et al., 2000) aunque en nuestros estudios sólo se encontraron diferencias significativas en la media geométrica de los títulos de anticuerpos a favor del sexo femenino en los vacunados de secundaria básica.

El análisis de los resultados de este estudio permiten concluir que los niveles de seroprotección, de buenos respondedores y MGT alcanzados por todos los vacunados durante todos los períodos de evaluación, evidencian la elevada respuesta inmunológica que fue capaz de provocar la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en todos los niños del estudio. Aunque ésta fue superior en los niños del círculo infantil y de la escuela primaria (menores de 10 años), en relación con el grupo de la escuela secundaria básica, y por sexos sólo se encontraron diferencias en la MGT a favor del sexo femenino en los vacunados de secundaria básica.

### **Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en ancianos**

El envejecimiento de la población representa un importante reto para las autoridades de salud pública y está asociado con el debilitamiento del organismo, una disminución del funcionamiento de los sistemas fisiológicos, incluyendo el sistema inmune y un incremento en la ocurrencia de infecciones. En las personas de más de 65 años de edad, la infección es una de las principales causas de mortalidad y una importante causa de morbilidad, por lo que la prevención de las enfermedades infecciosas en los ancianos a través de la vacunación es el mejor camino para reducir el sufrimiento y los daños que éstas ocasionan (Dodet, 2005).

Estos son los primeros resultados que se obtienen con la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en personas de más de 65 años. En la literatura internacional consultada encontramos pocas investigaciones con vacunas en ancianos. Esto es debido, entre otras cosas, a que la vacunación en edades avanzadas escapa generalmente a las obligaciones legales y es a menudo demasiado descuidada (Ajjan, 1991).

En concordancia con estudios previos se ha evidenciado que el nivel de anti-HBs disminuye con la edad (André, 1990; Rendi-Wagner et al., 2000) y en estudios citados

por el Profesor André y otros autores, los adultos mayores de 40 años respondieron con niveles de seroconversión, seroprotección y MGT menores que los adultos jóvenes (André, 1989; Faustini et al., 2001). En consecuencia, la inmunorrespuesta de los ancianos debe ser menor a las de otros grupos de personas de menor edad. Además es conocido que la respuesta inmune en los ancianos se afecta como consecuencia del envejecimiento natural del ser humano (déficit relativo en la función de las células T) (Lam, 1994).

La protección contra el virus de la hepatitis B se adquiere con títulos de anticuerpos  $\geq 10$  UI/L (André, 1990) y los estudios realizados con vacuna Engerix B (Smith Kline Beecham Biologicals), han demostrado que un mes después de la aplicación de la tercera dosis (210 días), más del 96% de los adultos sanos están protegidos (Wideman et al., 1987). En nuestro estudio, esto no sólo se evidenció, sino que fue superado, pues a los 60 días se alcanzó el 47,1% de seroprotección, pero ya a los 210 días el 100,0 % de los ancianos vacunados presentó títulos de anti-HBs protectores. En un estudio realizado en ancianos reclutados de consultas externas de hospitales de Holanda, con el empleo de similares dosis y esquema de inmunización que nosotros, los autores obtuvieron 9% y 63% de títulos de anti-HBs protectores a los 60 y 210 días respectivamente (de Rave et al., 1994), resultados que demuestran la mayor inmunogenicidad de la vacuna cubana. En otro estudio realizado en personas con edades parecidas a las incluidas en nuestro estudio (59 y más años de edad) los autores encontraron 46% de seroprotección en las personas que tomaron medicamentos para algunas enfermedades crónicas y 78% para el grupo que no ingirió ningún medicamento después completado un esquema primario de vacunación de tres dosis (Hessel, 2002); estos hallazgos también son muy inferiores a los obtenidos en nuestro estudio. En el resumen de los estudios de la vacuna Engerix B conducidos por diferentes autores y referidos por André, el Dr. Godeau en Francia, con el esquema 0, 1 y 6 meses y concentración de 20 ug de la vacuna Engerix B en adultos sanos, alcanzó en el 67 % de los vacunados, títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L a los 210 días (André, 1988). Estos hallazgos son inferiores a los obtenidos en nuestro trabajo, ya que el 78,6 % de los ancianos logró títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L, cifras que son



consideradas de buenos respondedores a la vacuna y de una respuesta inmunológica satisfactoria (André, 1988).

Al igual que en diferentes estudios, se apreció una lógica declinación de la concentración de anti-HBs a medida que se alejaba el estímulo antigénico de la vacuna con el decursar del tiempo (André, 1990; Rendi-Wagner et al., 2000) pero se mantuvo una buena inmunorrespuesta en los vacunados, pues al año, el 100,0 % de los ancianos evidenciaron anti-HBs $\geq$ 10 UI/L; el 61,5 % respondió con anti-HBs $\geq$ 100 UI/L y el 7,7% anti-HBs $\geq$ 1000 UI/L. Finalmente, a los dos años del comienzo de la vacunación, se conservó el nivel protector en más del 70% de los ancianos.

En el estudio conducido por de Rave y colaboradores (1994) se demuestra lo planteado por otros autores, que la respuesta inmunológica de los adultos jóvenes es superior a la obtenida en los ancianos (André, 1989; Faustini, 2001), pues los niveles de la MGT obtenidos por este autor a los 210 días fueron de 306 UI/L (de Rave et al., 1994). En nuestro estudio la MGT alcanzada por la vacuna Heberbiovac HB fue de 136,9 UI/L, también a los 210 días de iniciada la investigación y aunque los resultados no son comparables por las diferencias en edades, demuestran una respuesta inmunológica satisfactoria en los ancianos vacunados, al lograrse 13 veces el nivel mínimo protector.

Es interesante expresar que la MGT incrementó sus niveles a los 365 días en ausencia de dosis adicionales de vacuna y sin detectarse el HBsAg, que es el marcador clásico de infección empleado en la investigación. Este incremento es inexplicable, pero es consistente con la hipótesis de que estos ancianos pudieron haber padecido una exposición natural al virus con subsecuente respuesta anamnésica, similar a la obtenida después de una inyección de refuerzo. Este aumento en la concentración de anticuerpos se ha observado en otros estudios revisados en la literatura internacional, y la posible respuesta es similar a la nuestra (Chotard et al., 1992; Marseglia et al., 2001), sin embargo, a los dos años se apreció una declinación de la MGT similar a lo observado en la mayoría de los estudios revisados en la literatura internacional (André, 1990; Chotard et al., 1992) aunque ésta mantuvo niveles de protección.

Los resultados obtenidos con la vacuna cubana contra la hepatitis B en el grupo de ancianos estudiados nos permiten concluir que su poder inmunogénico se encuentra en

niveles similares a los obtenidos con otras vacunas contra la hepatitis B registradas en el momento de realizado el estudio confiriéndole una adecuada protección contra la hepatitis B a las personas mayores de 65 años del estudio.

### **Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños escolares de 6 a 9 años de edad.**

La OMS ha señalado que uno de los propósitos de los estudios de inmunogenicidad en seres humanos es definir la cantidad de antígeno y el número de dosis necesarias para estimular respuestas eficientes de anticuerpos (WHO, 1987; Meheus 1995). Por esta razón nos trazamos el objetivo de estimar si la vacuna Heberbiovac HB era capaz de producir parámetros seguros de inmunogenicidad (títulos de anti-HBs  $\geq 10$  UI/L), con dosis inferiores a 10  $\mu\text{g}$  que son las recomendadas por el productor, con el esquema de inmunización 0, 1 y 6 meses, en una muestra de niños escolares de 6 a 9 años de edad.

Los valores de seroprotección alcanzados en el estudio a los 60 días, (88,9 % en el grupo A; 87,7 % en el B y 79,4 % en el C) inclusive con la menor concentración de la vacuna (2,5  $\mu\text{g}$  en el grupo C) superan los hallazgos logrados en un estudio referido por André en 1998 para un grupo de edad similar, pues este autor reportó solamente el 70 % de seroprotección con 10  $\mu\text{g}$  de la vacuna Engerix B. Sin embargo los resultados de Tsega y Taffesse se acercaron más a los nuestros en estudios conducidos por estos autores en niños con el empleo de concentraciones de 5  $\mu\text{g}$  y 20  $\mu\text{g}$  de vacuna respectivamente (Tsega y Taffesse, 1992;) A los 210 días, los vacunados de los tres grupos seroconvirtieron por encima del 98 % y todos con títulos protectores. Resultados semejantes a los nuestros, también con 10  $\mu\text{g}$  de vacuna fueron alcanzados por otros autores en Hong Kong y en Singapur (Lai et al., 1986; Goh et al., 1992). En un ensayo realizado en Italia, los autores informaron 98,2% de títulos  $\geq 10$  UI/L en los niños de su estudio (Belloni et al., 2000). Los hallazgos del profesor Milne y colaboradores en 1989 en Nueva Zelanda y los nuestros son similares con una concentración de 5  $\mu\text{g}$ . Los hallazgos descritos en los últimos cuatro estudios fueron realizados en niños de edades similares a las de los escolares de nuestro estudio. La seroconversión con títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L, que a los 60 días favorecía ampliamente al grupo de 10  $\mu\text{g}$ , a los 210 días, alcanzó resultados similares con 10  $\mu\text{g}$  y 5  $\mu\text{g}$ , mientras que el grupo de 2,5  $\mu\text{g}$

logró sólo 81,4% con diferencias significativas entre los grupos a favor de los grupos A y B sobre el grupo C. Estos resultados ponen de manifiesto que el grupo vacunado con 5 µg, logró una eficiencia inmunológica semejante a la del grupo de 10 µg. En su reporte, Del Canho y colaboradores en 1994 sólo lograron cifras superiores al 90 % y con la inoculación de cuatro dosis de vacuna.

La MGT del estudio a los 210 días, con una concentración de 10 µg, fue 2 356,8 UI/L y 1 958,9 UI/L con 5 µg, estos valores superan a los referidos por Goh y colaboradores en 1992 en Singapur con 10 µg y a los hallazgos de Vodopija en Yugoslavia con 10 µg y 5 µg. en los resultados de los resúmenes de los estudios conducidos por diferentes autores con la vacuna Engerix B y referidos por André en 1988. En otro de los resultados referidos por André, este autor informó cifras de MGT inferiores a la nuestra cuando empleó en los niños 20 µg de vacuna. Sin embargo, nuestros hallazgos con 10 µg son inferiores a los obtenidos en un estudio realizado en Cuba con dosis de 10 µg, también a los 210 días de evaluación y en niños menores de 10 años (Díaz et al., 1996) e inferiores igualmente a los reportes de Lai y colaboradores en 1996 en Hong Kong, Milne y colaboradores en 1989, y Del Canho y colaboradores en 1994, todos con similares grupos de edades, tiempo de evaluación y concentración vacunal. Cuando Del Canho y colaboradores emplearon dosis de 5 µg también obtuvieron resultados superiores a los nuestros con similar concentración de vacuna, sin embargo, los resultados de Vodopija reportados por André en 1998 fueron inferiores a la MGT de nuestra investigación con una dosis de 5 µg de vacuna.

Para concluir podemos expresar que se evidenció el elevado poder inmunogénico de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a las dosis de 5 y 10 µg, las cuales provocaron respuestas inmunológicas similares en los niños estudiados, mientras que la dosis de 2,5 µg, aunque inmunogénica, no logró la elevada respuesta inmunológica de los grupos anteriores. Estos resultados plantean la posibilidad de utilizar dosis de 5 µg (que son inferiores a las recomendadas actualmente por el productor) para la población infantil de bajo riesgo, lo cual favorecería el costo beneficio de la vacunación anti-hepatitis B.

### **Inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en adultos jóvenes.**

El objetivo de este estudio fue estimar si la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B era capaz de producir parámetros seguros de inmunogenicidad con dosis inferiores a 20 µg que son las recomendadas por el productor, con el esquema de inmunización 0, 1, 2 y 12 meses, en una muestra de adultos jóvenes sanos.

El objetivo antes expresado se cumplió desde los 60 días pues con la aplicación de sólo dos dosis de vacuna se observaron evidencias serológicas de anti-HBs con títulos protectores, en más del 90 % de los adultos jóvenes sanos a los que se les aplicó la vacuna Heberbiovac HB, resultados que son similares a los alcanzados por Mumtaz y Siddiq (2008) (95% de seroprotección) con similares dosis y periodo de evaluación.

Los estudios realizados con vacuna Engerix B (Smith Kline Beecham Biologicals), han demostrado que un mes después de la aplicación de la tercera dosis, más del 96% de los adultos sanos están protegidos (Wideman et al., 1987) y en un análisis más reciente realizado en datos publicados por Jacques, para 32 904 sujetos vacunados, se muestra que las actuales vacunas recombinantes contra la hepatitis B protegieron al 95,5% de sujetos que recibieron Engerix B y 94,3% de los vacunados a los que se les inoculó Recombivax-HB-Vax después de un esquema de vacunación primario (Jacques, 2002). A los 90 días de la evaluación (después de la aplicación de la tercera dosis de la vacuna) los resultados del estudio son superiores a los descritos para las vacunas antes citadas, pues la seroconversión con títulos  $\geq 10$  UI/L fue cercana al 100 % en todos los grupos. Nuestros hallazgos son similares al 100% de seroprotección después de la inoculación de la tercera dosis de la vacuna Engerix B con 20 µg en adultos jóvenes de Canadá, publicado en el 2006 (Halperin et al., 2006). Está descrito que existe una clara relación entre la dosis administrada y la respuesta de anticuerpos, aunque también está demostrada la variabilidad de la respuesta individual (Ambrosh et al., 1987; Cinza et al., 2007). En nuestro estudio se identificó a los 90 días, que las cuatro concentraciones de vacuna empleadas indujeron una protección similar, sin que existieran diferencias significativas entre los porcentajes de seroprotección de los cuatro grupos del estudio. Nuestros resultados en el período de evaluación antes expresado, son similares a los

encontrados por Galbán y Bravo (1991) en un estudio que realizaron en Cuba con la vacuna cubana Heberbiovac HB a las concentraciones de 10  $\mu\text{g}$  y 20  $\mu\text{g}$ , cuando alcanzaron 100,0% de voluntarios protegidos con ambas concentraciones de vacuna, sin embargo, nuestros hallazgos son superiores con todas las concentraciones de vacuna que empleamos a los resultados de seroprotección de la vacuna Engerix B (80,8 %) y con 20  $\mu\text{g}$ . logrados en el estudio de los autores antes citados. A los 360 días del comienzo de la vacunación, los resultados de seroprotección se asemejan a los de Galbán y Bravo (1991), con el empleo de 10  $\mu\text{g}$  de la vacuna Heberbiovac-HB (91,7 %) y 20  $\mu\text{g}$  de la vacuna Engerix B (92,3 %), sin embargo nuestros hallazgos para ese mismo tiempo de evaluación, son inferiores a los de esos autores cuando aplicaron 20  $\mu\text{g}$  de la vacuna cubana contra la hepatitis B pues lograron 100,0 % de títulos  $\geq 10$  UI/L en sus voluntarios. En nuestro estudio, los mejores resultados de la seroprotección con anti-HBs  $\geq 100$  UI/L a los 60 días, correspondieron al grupo de 10  $\mu\text{g}$  con 56,9 % sin embargo, a los 90 días todos los grupos alcanzaron resultados satisfactorios que oscilaron entre 75,0 % con 5  $\mu\text{g}$  y 96,2 % con 20  $\mu\text{g}$ ; lo que puso de manifiesto la adecuada eficiencia inmunológica mostrada por nuestros voluntarios ante la inoculación de la vacuna. Heberbiovac HB. Cuando comparamos los resultados de nuestro estudio con 20  $\mu\text{g}$  de HBsAg con los de un estudio realizado en Colombia, se evidencia que sus valores (anti-HBs  $\geq 100$  UI/L) (Juliao et al., 1991) son similares a los nuestros con la vacuna cubana Heberbiovac-HB (97 % de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L), pero resultaron inferiores a nuestros hallazgos cuando utilizaron la vacuna Engerix B (57 % de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L). En esta evaluación, Juliao y colaboradores emplearon 20  $\mu\text{g}$  de concentración de HBsAg en ambos resultados.

Es conocido que la dosis que se aplica a los 12 meses, cuando se utiliza el esquema de vacunación 0, 1, 2 y 12 meses, actúa como un refuerzo e incrementa considerablemente los títulos de anticuerpos y que el impacto de cada dosis de vacuna puede ser medido comparando los títulos de anti-HBs antes y después de la aplicación de cada dosis (André y Safari, 1990). En nuestro estudio no fue posible realizar la extracción de sangre para la toma de muestra de los 13 meses (un mes después de aplicada la cuarta dosis de la vacuna), y medir los títulos de anti-HBs en ese período, por lo que no se pudo apreciar

el incremento de los niveles de anticuerpos que suele observarse después del refuerzo como se ha explicado con anterioridad.

A los 60 días, cuando la cinética de los títulos de anti-HBs aún no ha alcanzado los valores máximos, las MGT en todos los grupos de nuestro estudio mostraron niveles protectores. En un estudio realizado con la vacuna Engerix B, en adultos sanos y con 20 µg de HBsAg, a los 90 días, André reportó una MGT de 222 UI/L (André, 1990), Los resultados obtenidos en nuestro estudio en ese mismo periodo, son superiores a los reportados por este autor, incluso con una dosis tan pequeña como 5 µg (273,7 UI/L).

Finalmente, aunque en los cuatro grupos del estudio los niveles de la MGT, descendieron a medida que se alejaba el estímulo antigénico de la vacuna con el decursar del tiempo, como está reportado por diferentes autores (Chotard et al., 1992; Gilks et al., 1989), a los 360 días del comienzo del estudio las MGT mantuvieron títulos de anti-HBs protectores que oscilaron entre 3 y 15 veces el valor mínimo protector con dosis de 5 µg y 20 µg respectivamente.

Los resultados obtenidos con el empleo de la vacuna cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en los adultos jóvenes sanos del estudio nos permiten concluir que su poder inmunogénico con las dosis de 10 µg, 15 µg y 20 µg fue similar y se encuentra en niveles similares a los obtenidos con otras vacunas de su tipo registradas en el momento de realizado el estudio, resultados que plantean la posibilidad de aplicar en los adultos jóvenes y sanos, dosis de 10 µg y 15 µg. que son menores de 20 µg que es la recomendada por el productor, lo que puede repercutir favorablemente en el costo beneficio para el PNI y significar una buena alternativa para los países de menos recursos económicos, ya que al disminuirse los microgramos del inmunobiológico necesarios para lograr títulos de anti-HBs protectores, se podría inmunizar un mayor número de personas.

#### **Comparación de la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B con la obtenida con una vacuna plasmática en adultos sanos.**

En 1981 se licenció en Estados Unidos la primera vacuna plasmática contra la hepatitis B (Heptavax B, de la firma Merck Sharp y Dohme) (González, 2001). Las vacunas plasmáticas demostraron ampliamente su seguridad y eficacia durante más de una

década de empleo en varios millones de personas en todo el mundo, y no se asociaron con riesgos de transmisión del VIH u otros agentes infecciosos. Sin embargo, desde el inicio existieron muchas preocupaciones acerca del uso de estas vacunas, por el temor al riesgo potencial de transmisión del VIH y otros agentes infecciosos en el plasma, que pudieran evitar los procesos de inactivación empleados en la elaboración de la vacuna, y también preocupaciones sobre la posibilidad de reacciones autoinmunes que pudieran provocarse por la administración de la vacuna, y el temor al uso de un producto derivado de la sangre. Por otra parte el bajo suministro y el alto costo de la vacuna derivada del plasma limitaban el alcance de los programas de vacunación, por lo que era necesario buscar otras fuentes alternativas de HBsAg para el potencial control de la hepatitis B, lo cual se logró con el advenimiento de las técnicas de ADN recombinantes, pues con ellas era posible producir grandes cantidades de HBsAg (Muzio y Pentón, 1998).

En febrero de 1984 se iniciaron los ensayos clínicos de la vacuna ADN recombinante derivada de levadura, la vacuna recombinante anti-hepatitis B, Engerix B, de la firma Smith Kline Beecham Biologicals, de Bélgica, la que demostró ser segura e inmunogénica. Resultados obtenidos por otros investigadores (André, 1988; André, 1990; André y Safari, 1990) evidenciaron que la respuesta de anticuerpos inducida por la vacuna recombinante derivada de levaduras, es similar o mejor que la obtenida con las vacunas anti-HB derivadas de plasma comercialmente disponibles.

En este contexto en el mundo existían millones de personas primovacunadas con vacunas plasmáticas, por lo que era necesario determinar, si las nuevas vacunas recombinantes tenían capacidad para incrementar los títulos de anticuerpos en sujetos previamente vacunados con vacunas derivadas de plasma al aplicar una reactivación con vacuna recombinante. Estudios realizados posteriormente, demostraron que las vacunas recombinantes podían ser usadas como reactivación para elevar los títulos de anti-HBs en sujetos previamente vacunados con vacunas derivadas de plasma. (André, 1988; André, 1990; Trivello et al., 1995). Este estudio se realizó para determinar si la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B cumplía los objetivos antes expresados y ya demostrados para otras vacunas recombinantes licenciadas en el mundo.

Al grupo A se le aplicaron 5 µg de la vacuna plasmática que es la concentración de antígeno recomendada por el productor para esta vacuna en los adultos y el grupo B recibió 20 µg que es la concentración de antígeno que el productor recomienda para los adultos para la vacuna recombinante cubana. De esta manera los grupos son comparables al recibir las concentraciones de vacunas recomendadas para los adultos en ambos casos. En las evaluaciones de los 60, 90 y 360 días, los porcentajes de seroprotección fueron superiores en el grupo de adultos vacunados con la vacuna cubana, sin diferencias significativas entre los grupos. Al analizar los resultados de los vacunados con títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L por grupos, excepto en la evaluación de los 90 días, en que el grupo A alcanza un valor ligeramente superior al obtenido por el grupo B, este parámetro fue superior en el grupo de sujetos vacunados con la vacuna cubana en el resto de las evaluaciones aunque no se apreciaron diferencias significativas entre los dos grupos del estudio. La MGT fue significativamente superior a los sujetos a los cuales se les aplicó la vacuna cubana en todas las evaluaciones realizadas en el estudio.

Al analizar los resultados del estudio por vacunas, se alcanzaron mejores resultados inmunológicos (seroprotección, títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L y MGT) con la vacuna recombinante cubana que con la vacuna control, aunque las diferencias fueron significativas solamente en la MGT. Estos hallazgos coinciden con resultados obtenidos por otros investigadores (André, 1988; André, 1990; André y Safari, 1990), que demostraron que la respuesta de anticuerpos inducida por las vacunas recombinantes derivadas de levaduras, fue similar o mejor que la obtenida con las vacunas anti-HB derivadas de plasma comercialmente disponibles

La capacidad de la vacuna cubana para incrementar los títulos de anti-HBs en sujetos previamente vacunados con vacunas derivadas de plasma, al aplicar una reactivación con la vacuna recombinante cubana, fue evaluada a los 13 meses, (un mes después de la aplicación del refuerzo) evidenciándose que la vacuna cubana Heberbiovac HB fue capaz de generar una poderosa respuesta de anticuerpos pues la seroprotección se elevó de 81,8% a 100,0%; los anti-HBs  $\geq 100$  UI/L ascendieron de 27,3% a 81,8% y el



incremento de la MGT fue de 40,5 UI/L a 1728,5 UI/L) al aplicarse como reactivación en primovacunados con vacuna derivada del plasma de portadores crónicos del VHB.

En un ensayo reportado por André en adultos sanos primovacunados con vacuna plasmática, (con similares esquemas y dosis aplicadas de vacuna derivada de plasma a los nuestros), también se apreció un incremento considerable de la respuesta inmune un mes después de la inoculación de una reactivación (13 meses) con vacuna recombinante anti-hepatitis B, pues la MGT se incremento de 160 UI/L a 15 805 UI/L (André, 1988). Trivello y colaboradores también reportaron altos incrementos de los títulos de anticuerpos en sujetos primovacunados con vacuna plasmática y reactivados con vacuna recombinante incluso 6 años después de haberse completado el esquema primario de inmunización (0, 1, 2 meses) (MGT 1022,3 UI/L antes del refuerzo y 149 961,4 UI/L un mes después del refuerzo) (Trivello et al., 1995).

En conclusión, la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B evidenció en los vacunados, resultados inmunológicos superiores referidos a seroprotección, títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L y MGT a los de la vacuna derivada de plasma empleada en el estudio comparativo y fue capaz de incrementar considerablemente estos parámetros de la respuesta inmune en sujetos primovacunados con vacuna plasmática.

#### **Eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en niños impedidos físicos y mentales. Seguimiento hasta 14 años después del comienzo de la vacunación.**

El seguimiento de la eficacia protectora de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B a diferentes dosis en una cohorte de niños impedidos físicos y mentales, que constituyen un grupo vulnerable y de alto riesgo para la infección por el VHB, permitió incrementar el aporte científico de la vacuna Heberbiovac HB ya que es la única investigación realizada con este inmunobiológico en nuestro país que ha podido ser seguida clínica y serológicamente a través de un largo período de tiempo. Estos resultados permitieron conocer la eficacia protectora de la vacuna Heberbiovac HB en este grupo de alto riesgo a la infección por el VHB 14 años después del comienzo de la vacunación.

En un estudio de un Hospital de Leeds se realizó un seguimiento a los 29 sujetos con Síndrome de Down que presentaron menos de 50 UI/L de anti-HBs en su suero; a estos pacientes se les aplicó un esquema de vacunación anti-hepatitis B y su respuesta fue similar a la de sujetos sanos de similares edades y no infectados con el VHB (Green, 1989). Tomando en cuenta esta experiencia y que, los estudios de seguimiento a largo plazo de cohortes de vacunados con vacunas recombinantes contra la hepatitis B, en niños impedidos físicos y mentales y de otros grupos son limitados (Bialek et al., 2008), decidimos realizar algunos análisis y comparaciones con otros grupos específicos que incluyeron individuos con riesgos de infección por el VHB y otros antecedentes patológicos.

En un estudio realizado en niños sanos de 1 a 5 años de edad, en Nueva Zelanda, los autores alcanzaron una seroprotección del 58 % a los 60 días y con el empleo de una concentración de 10 µg de antígeno vacunal (Milne et al., 1989), ese valor es inferior a los resultados obtenidos en nuestro estudio con similar dosis; mientras que en el resumen de los estudios de la vacuna Engerix B conducidos por diferentes autores y referidos por André, los hallazgos de Vodopija, en niños sanos de 3 a 4 años de edad, son similares a los nuestros en el grupo de 5 µg, ya que este autor logró 76 % de seroprotección, también con dosis de 5 µg. (André, 1989).

A los 210 días se alcanzó 100,0 % de seroprotección en los niños vacunados en ambos grupos del estudio. En general, ningún estudio revisado, (aunque la mayoría en niños sanos por la escasez de trabajos en grupos de impedidos físicos y mentales de edades similares a los incluidos en nuestro estudio), se queda por debajo del 90 % para este período de evaluación (210 días). En el caso de los referidos por André, que son un resumen global de 5 estudios, se reportó una seroprotección de 98,0 % (André, 1988), mientras que en otra investigación realizada en individuos mentalmente incapacitados, este autor reportó el 96% de los sujetos seroprotegidos. En otro estudio realizado en Italia, los autores informaron 98,2% de seroprotección en los niños de su investigación y en otro ensayo realizado en Cuba, se reportó 100,0 % de títulos de anti-HBs  $\geq$  10 UI/L, todos un mes después de la tercera dosis de vacuna y 10 µg de HBsAg (Díaz et al., 1996; Belloni et al., 2000). Nuestros resultados en ambos grupos son similares a los

porcentajes de seroprotección referidos por Poirriez, (98,3% -98,5%) con la aplicación de 10 µg y 5 µg de HBsAg en lactantes y niños después de la aplicación de un esquema de tres dosis de vacuna recombinante anti-hepatitis B (Poirriez, 2002).

A los 365 días todos los vacunados de ambos grupos se mantuvieron protegidos, lo que evidencia el mantenimiento de una adecuada inmunorrespuesta en los impedidos físicos y mentales del ensayo clínico y aunque a los dos años la seroprotección disminuyó en ambos grupos del estudio, se mantuvo una adecuada respuesta inmune en los vacunados, con porcentajes de seroprotección de más del 80% ambos grupos.

En un estudio realizado por Pasko y colaboradores., en personal de salud pública de New York y con el empleo de la vacuna Heptavax-HB (Merck Sharp & Dohme) y 20 µg, estos autores alcanzaron 68 % de seroprotección a los tres años de seguimiento (Pasko et al., 1990), estos resultados son similares a los nuestros con 10 µg en similar período de evaluación. Sin embargo, en otra investigación realizada en Italia, en sujetos con alto riesgo para la infección por el VHB (diabéticos) con rango de edad entre 8,6 y 28,7 años y la aplicación de 10 µg de vacuna Recombivax HB de Merck Sharp & Dohme se reportó una seroprotección de 92% (Marseglia 2001), superior a la alcanzada por nosotros (62,5%) en los sujetos evaluados en el grupo A cuatro años después de completado el esquema de inmunización. A partir de los dos años, y hasta los 14 años que duró el seguimiento de este estudio, se evidenció una disminución paulatina en los porcentajes de seroprotección en la cohorte de niños vacunados en los dos grupos, a medida que se alejó el estímulo antigénico por el decursar del tiempo, como está referido por diferentes autores (Thompson et al., 1994; Rendi-Wagner et al., 2000; Faustini et al., 2001).

La magnitud de la respuesta de anti-HBs en el grupo de 10 µg, a los 210 días, fue elevada, ya que, según la bibliografía revisada, se considera que las personas que responden a la vacuna con títulos de anti-HBs entre 100 UI/L y 999,9 UI/L son consideramos buenos respondedores (André, 1988).

A los 60 días, la MGT de nuestro estudio en el grupo de 10 µg (48,4 UI/L) fue superior a los valores de 27,2 UI/L obtenidos por Vodopija en Yugoslavia con similar concentración de antígeno, en sus hallazgos incluidos en los resultados de los resúmenes

de los estudios conducidos por diferentes autores con la vacuna Engerix B y referidos por André (André, 1988), mientras que nuestros resultados con 5 µg (19,9 UI/L) superan los valores de la MGT alcanzados por Milne en Nueva Zelanda (1989) con 10 µg de la vacuna Engerix B (4,7 UI/L). Un mes después de finalizado el esquema primario de vacunación André refirió en el resumen de los estudios de la vacuna Engerix B, que Vodopija obtuvo una MGT de 478 UI/L y 340 UI/L con dosis de 10 µg y 5 µg, respectivamente (André, 1988), resultados comparables a los alcanzados en nuestro estudio en similar periodo de evaluación. (527,7 UI/L con 10 µg y 324,7 UI/L con 5 µg).

La MGT mantuvo niveles por encima del valor mínimo de protección hasta los cuatro años en el grupo A y hasta los tres años en el grupo B. Los hallazgos de Zanetti y colaboradores en niños, (MGT de 32,1 UI/L) son superiores a nuestros resultados (MGT < 10 UI/L) en una evaluación realizada por estos autores a los 10 años del comienzo de la vacunación universal en infantes italianos (Zanetti et al., 2005). La duración de la protección aún no está totalmente definida en los vacunados contra la hepatitis B (Hammit et al., 2007). Ensayos de vacunas bien diseñados han demostrado persistencia por largo tiempo de la memoria inmunológica en adultos sanos por un periodo de tiempo de 5-12 años y negatividad serológica al anti-HBc, para todos los participantes por un periodo de seguimiento de siete años (Van Herck et al., 1998). Otros autores plantean que bajos (<10 UI/L) o indetectables títulos de anti-HBs no es necesariamente un indicador de la pérdida de protección en niños o adultos, ya que la memoria inmunológica puede jugar un papel importante en la protección contra la infección por el VHB, al menos contra las formas clínicas (WHO, 2004), como se muestra en niños vacunados en Taiwán y citados por González, donde la caída inicial de anti-HBs no fue seguida de la aparición de manifestaciones de enfermedad clínica u otras complicaciones relacionadas con la infección por el VHB debido, posiblemente, a frecuentes reactivaciones naturales como puede ocurrir en condiciones medio-ambientales de alto riesgo a la infección por el VHB (González, 2001). No se observó antigenemia entre respondedores previos dos a seis años después de la vacunación en la serie de niños del estudio de González y colaboradores en 1993; ni en los estudios de Viladomiu, Lo y

Torres citados por González en 2001). En un estudio realizado en niños de Micronesia a los cuales se les inoculó vacuna recombinante anti-hepatitis B al nacimiento, y seguidos hasta los 15 años, no se evidenció positividad al HBsAg en ninguno de los evaluados, pero aunque sólo el 40,0% de estos mantuvieron títulos de anti-HBs protectores, ninguno presentó infección crónica por el VHB (Bialek, 2008). En otra investigación realizada en 37 infantes de Alaska, en la evaluación efectuada 15 años después haber sido vacunados contra la hepatitis B, todos fueron negativos al marcador de infección pasada al VHB (Hammitt, 2007).

Los planteamientos antes expresados también se demostraron en los resultados de seguimiento a largo tiempo del estudio, pues ninguno de los vacunados presentó antigenemia en los respondedores previos, y ninguno evidenció formas clínicas de la enfermedad por lo que la eficacia protectora fue del 100,0% a través de los 14 años de seguimiento. Estos resultados son superiores a los alcanzados en ocho estudios conducidos por diferentes autores con la aplicación de la vacuna Engerix B en neonatos de alto riesgo a la infección por el VHB pues en estas investigaciones la eficacia protectora osciló entre 85,5% y 98,1%, inclusive con la aplicación de IgHB en varios de ellos (Stephene, 1992). De cualquier modo, es imprescindible que se continúen realizando otros estudios sobre la respuesta de memoria que la vacuna cubana es capaz de inducir. Similar razonamiento ha sido planteado también por Van Herck y colaboradores en su estudio de persistencia a largo plazo de anti-HBs después de la aplicación de una vacuna ADN recombinante anti-hepatitis B derivada de levadura por un espacio de ocho años de seguimiento, pues este autor plantea que sólo con el seguimiento adicional de estudios en grupos de alto y bajo riesgo se determinará la duración de memoria inmunológica después de la vacunación anti-hepatitis B (Van Herck K et al., 1998).

El poder inmunogénico de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en los niños impedidos físicos y mentales del estudio fue elevado y se encontró a niveles similares a los obtenidos con las mejores vacunas de su tipo en el momento de la realización del estudio, incluso con dosis de 5 µg y la eficacia protectora de la vacuna cubana contra la hepatitis B fue de 100,0% ya que ninguno de los vacunados de los dos

grupos evidenció positividad al marcador de infección utilizado en el estudio (HBsAg) ni presentó hepatitis B aguda en el seguimiento clínico realizado hasta 14 años después de la aplicación de la primera dosis del inmunobiológico.

### **Efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños hijos de madres positivas al HBsAg.**

Los hijos de madres positivas al HBsAg tienen un elevado riesgo para contraer la infección por el VHB. Hay estimaciones que señalan que entre el 60-90 % de estos niños se convertirán en infectados y casi todos serán portadores crónicos, si no son vacunados al nacimiento (Stephenne, 1992; CDC, 2007). La inmunotolerancia adquirida al nacimiento a los antígenos virales se cree que juega un papel importante en la persistencia del VHB en el período neonatal (WHO, 2004).

Los resultados publicados por Kato y colaboradores y realizados por la técnica de RCP indican que una gran proporción de la transmisión de la hepatitis B de madre a hijo ocurre en el primer año de vida y aunque se realizan estudios con tratamientos con lamivudina en madres positivas al HBsAg para prevenir la infección perinatal en sus hijos (Kassim SN et al., 2002; van Zonneveld et al., 2003; Xu et al., 2009), la inmunoprolifaxis contra el VHB suministra una continua protección contra la infección crónica al menos hasta los 4-6 años de edad (Kato et al., 2000).

La prevención de la transmisión perinatal del VHB es una de las estrategias seguidas por las autoridades del MINSAP para evitar la infección, la enfermedad y las complicaciones de este agente infeccioso. En concordancia con las estrategias de la OMS (WHO, 2009), desde el año 1992 se realiza la vacunación universal a todos los recién nacidos de madres negativas al HBsAg con el esquema de vacunación 0, 1 y 6 y en el año 1991 se orientó por el MINSAP que a todos los recién nacidos de madres positivas al HBsAg se les aplicara un esquema diferenciado de cuatro dosis a los tiempos 0, 1, 2 y 12 meses de nacidos. Como en este esquema se aplican tres dosis sucesivas de vacuna separadas por un mes, esto garantiza una producción de anti-HBs más rápida que el esquema 0, 1 y 6 meses, y por lo tanto una protección más temprana contra el VHB en este grupo de alto riesgo a la infección por el VHB.

Ensayos clínicos realizados con la vacuna Engerix B han demostrado que la aplicación de la vacuna sola puede reducir considerablemente el riesgo de infección perinatal por el VHB, si se usan dosis y esquemas de inmunización adecuados (Stephenne et al., 1992). Sin embargo, la administración de la IgHB junto a la vacuna anti-hepatitis B incrementa su efectividad comparada cuando la vacuna se administrada sola. (Manchón, et al., 2009). Es importante destacar que, los resultados obtenidos en la prevención de la infección perinatal que se presentan en este estudio, fueron logrados con la aplicación de la vacuna cubana anti-hepatitis B sola, sin la inoculación simultánea de IgHB.

Al analizar la transmisión perinatal de la infección por el VHB en los niños vacunados del estudio, los resultados se asemejan a los publicados por otros autores, con valores que oscilaron entre 10,6 % y 2,4 % de niños positivos al nacer y vacunados en el periodo neonatal (Liu et al., 1997; Tang et al., 1998). En otra investigación realizada en Dinamarca, también en lactantes hijos de madres positivas al HBsAg, y vacunados en el período neonatal, según el esquema 0, 1 y 6 meses, se reportó un 0,6% de niños infectados con el HBsAg en la evaluación efectuada seis semanas después de la administración de la tercera dosis (siete meses de edad) de la vacuna Engerix B de la firma Smith Kline Beecham Biologicals (van Steenbergen et al., 2002), pero en este estudio, a los niños les inocularon IgHB después del nacimiento, medida que incrementa la efectividad de la vacuna, comparada cuando esta se administrada sola (Manchón, et al., 2009). En un ensayo realizado en Cuba, también con el empleo de la vacuna Heberbiovac HB, los autores no encontraron marcadores serológicos de infección por el VHB en el seguimiento a que fueron sometidos hasta los seis meses de edad los hijos de madres positivas al HBsAg vacunados en el período perinatal (Galbán et al., 1992). Los resultados antes descritos evidencian la capacidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B para proteger a los niños de la infección perinatal por el VHB.

El porcentaje de niños negativos al HBsAg (94,3%) en el estudio coincide con el reporte de Moulia-Pelat y colaboradores. en 1996.

En el análisis de la seroprotección, nuestros resultados (95,6 %) se acercan a los publicados por otros autores que han realizado estudios similares con el empleo de vacunas anti-hepatitis B reconocidas internacionalmente y han encontrado que el 91,4 %

de los hijos de madres positivas al HBsAg vacunados en el periodo perinatal tenían títulos de anti-HBs protectores a los nueve meses de edad, otros reportaron 95 % de seroprotección después de la primera dosis de refuerzo y en otra investigación se informa que el 100,0 % de los hijos de madres positivas estaban protegidos a los seis meses de edad (Kang et al., 1995; Vranckx et al., 1999; Zamir et al., 1999). En el estudio conducido por van Steenberg y colaboradores (2002) con el empleo de la vacuna Engerix B se reportó 97% de títulos  $\geq 10$  UI/L después de la extracción de los siete meses y en el estudio realizado por Galbán y colaboradores (1992) estos autores hallaron 100% de seroprotección a los seis meses de edad. Al analizar el grado de respuesta inmune van Steenberg y colaboradores superaron los resultados obtenidos en nuestro estudio (74% anti-HBs  $\geq 100$  UI/L), pues lograron 85% de títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L a los siete meses de evaluación. La MGT encontrada en nuestro estudio fue de 276,6 UI/L, cifra superior a la reportada por André (209 UI/L) en un estudio realizado en lactantes, con esquema de vacunación similar al nuestro y también después de la inoculación de la tercera dosis de la vacuna Engerix B (André, 1990). Otros autores reportan MGT superiores a la nuestra en sus estudios, entre ellas se encuentran los hallazgos de Galbán y colaboradores en la investigación realizada en Cuba en 1992 cuando obtuvieron una MGT de 998 UI/L al sexto mes de edad y esquema 0,1 y 2 meses, mientras que Vranckx y colaboradores en 1999 reportaron MGT de 2017 UI/L en un estudio realizado en Indonesia.

Como se ha expresado anteriormente, de los niños nacidos de madres infectadas por el VHB, entre el 60% y el 90% poseen el riesgo de adquirir la infección en el periodo perinatal (WHO, 1988; Committee on Infectious disease, 1992; Stephenne, 1992; CDC, 2007). La efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B obtenida en este estudio a los siete meses de edad, varió de 90,5% (60% de riesgo de infección) a 93,7 % (90 % de riesgo de infección) Estos resultados son superiores a los reportados en otros estudios donde la efectividad de la vacuna osciló entre 80 y 90% en la prevención de la infección en los sujetos que han recibido un esquema completo de vacunación (CDC, 2007; Chyi-Feng, 2009).



En este estudio se identificaron 29 niños infectados (5,7%) a pesar de haber sido vacunados, lo cual refuerza la necesidad de mantener el sistema de vigilancia que se realiza actualmente en nuestro país. Estos niños fueron seguidos por especialistas. Por otro lado, se fortalece la necesidad de combinar la inmunización pasiva con la activa pues como se ha expresado en párrafos precedentes, esta combinación garantiza una mayor efectividad en la prevención de la infección/enfermedad y sus secuelas. (Manchón, et al., 2009)

Estos son los primeros resultados que se obtienen con el empleo de la vacuna cubana Heberbiovac HB en niños hijos de madres positivas al HBsAg en las condiciones del PNI de nuestro país y sin la inoculación de IgHB y demuestran que las estrategias de inmunización seguidas en este grupo de lactantes en riesgo, en condiciones normales del PNI en Cuba son correctas, además apoyan una vez más que la vacuna Heberbiovac HB es efectiva para proteger contra la infección por el VHB y está al mismo nivel de otras vacunas de su tipo licenciadas en el mundo.

#### **Seroprevalencia de los títulos de anticuerpos contra el virus de la hepatitis B en niños cubanos de 1 a 5 años de edad.**

##### **Análisis de la inmunogenicidad a nivel nacional**

El porcentaje de protección encontrado en la muestra estudiada fue de 96.8%. Teniendo en cuenta el tamaño de la muestra incluida y su representatividad nacional se pudo inferir que más de 96 niños cubanos por cada 100 que se vacunaron estuvieron protegidos contra la hepatitis B. La vacuna, ya registrada, ha sido comparada con otros productos comerciales similares y los resultados obtenidos, como se ha expresado anteriormente, demuestran que la inmunogenicidad que la misma genera es similar e incluso supera a algunas de estas vacunas (Juliao et al., 2001; González, 2001; ul-Hag et al., 2003; Mumtaz y Siddiq, 2008). Este resultado es satisfactorio si lo comparamos con los reportes usuales de otras vacunas de este tipo que tienen como promedio un 95% de títulos protectores (Jacques., 2002). Además, en nuestro estudio se consideró que se obtendría una protección satisfactoria siempre que los niveles de anti-HBs  $\geq 10$  UI/L

fuesen mayores del 95% en el universo de niños evaluados, lo cual se sobrecumplió. Todos los grupos de edad presentaron porcentajes de protección por encima de 90%. El grupo que menor porcentaje de protección presentó fue el de cuatro años. Sin embargo, esto no significa que los niños de esta edad de todo el país se encuentren menos protegidos contra la hepatitis B que el resto de los grupos de edades estudiados, ya que la muestra no es representativa para cada grupo de edad, sino para los niños cubanos del rango de edad de 1 a 5 años. No obstante consideramos que la respuesta inmune de los niños de cuatro años es satisfactoria y es similar a lo descrito en otras investigaciones de la literatura internacional (Jacques, 2002). En una investigación realizada por Almeida y colaboradores, también con la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en niños pre-escolares de 1 a 5 años de edad nacidos, de 1992 a 1996 en Ciudad de la Habana y vacunados según el PNI, con una muestra mucho menor (n=106) que la nuestra, los autores obtuvieron un porcentaje de seroprotección general de 96,2%, similar al alcanzado en nuestro estudio (96,8%) y los porcentajes de títulos  $\geq 10$  UI/L fueron de 100% en los niños de uno y dos años y 94%; 96% y 95% en niños de tres, cuatro y cinco años respectivamente. En su estudio, Almeida y colaboradores obtuvieron también 94% de seroprotección en un grupo de su estudio con la vacuna cubana, pero en su caso fue el de tres años de edad (Almeida et al. 1997). Belloni y colaboradores reportaron 74,4% de seroprotección en los niños de cinco años de edad de su estudio, resultados inferiores a nuestros hallazgos (Belloni et al., 2000). En otro estudio publicado por Faustini y colaboradores en niños de cinco años de edad vacunados según el Programa de vacunación para recién nacidos en Lazio, Italia, el porcentaje de seroprotección fue de 92,9% (Faustini et al., 2001), cifras que también son inferiores a nuestros resultados. Bang-Lin en un estudio conducido para determinar el estatus de los niños pre escolares nacidos después del comienzo del programa de vacunación anti-hepatitis B en Taiwán, reportó un porcentaje general de anti-HBs  $\geq 10$  UI/L de 81,9% en niños de dos a seis años que completaron el esquema de vacunación, valor que también es inferior al nuestro, sin embargo, todos los niños de dos años de edad de su estudio estuvieron protegidos, no así los de seis años donde sólo se alcanzó el 75% de títulos protectores (Bang Lin et al., 1998).

Sólo 100 niños (3.2%) de 3130 presentaron títulos de anti-HBs <10 UI/L. Nuestros resultados son incluso ligeramente superiores a un análisis de datos publicados para 32 904 sujetos de diferentes grupos de edades donde se muestra que las actuales vacunas recombinantes contra la hepatitis B protegieron al 95,5% de los sujetos que recibieron Engerix B y 94,3% de los vacunados a los que se les inoculó Recombivax-HB. Por lo tanto existe un 5 % aproximadamente que no responden adecuadamente tras la administración de un curso estándar de tres dosis de vacunación contra la hepatitis B y las razones para esta inmunorrespuesta no están claras y son probablemente multifactoriales y relacionadas genéticamente (Jacques, 2002), aunque ninguna vacuna es efectiva al 100% ni mantiene la inmunoprotección fija a través del tiempo.

El 61,4% y el 15,9% de los títulos de anti-HBs corresponden a buenos respondedores e hiperrespondedores respectivamente. Esto significa que cerca del 80% del total de los niños comprendidos en esta investigación tienen títulos  $\geq 100$  UI/L. Esta respuesta se encuentra al menos 10 veces por encima de la cifra protectora contra la infección por el VHB. En su investigación, Almeida y colaboradores con la vacuna cubana lograron un porcentaje general de 79,2% de títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L en el grupo total de los niños estudiados (Almeida et al. 1997), resultados que son similares a los nuestros, mientras que Belloni y colaboradores en una cohorte de niños de cinco años de edad sólo alcanzan 35% de títulos  $\geq 100$  UI/L en su investigación con igual dosis y esquema de vacunación que nosotros (Belloni et al., 2000).

Al igual que en múltiples estudios, se apreció una lógica declinación de la concentración de anti-HBs a medida que se alejaba el estímulo antigénico de la vacuna con el decursar del tiempo (Rendi-Wagner et al., 2000; Faustini et al., 2001). La inmunorrespuesta está relacionada con la edad y los niveles de anti-HBs alcanzados son menores con el incremento de la edad de los vacunados. En nuestro estudio esto se cumplió porque la concentración de anti-HBs fue disminuyendo a medida que aumentó la edad de los niños, es decir, el grupo de niños de cinco años fue el que mayor porcentaje de anti-HBs <10 UI/L presentó, mientras que los niños de un año de edad que eran los que habían completado el esquema de vacunación más recientemente, fueron los que evidenciaron la mayor concentración de anti-HBs  $\geq 1000$  UI/L.

La duración de la protección aún no está totalmente definida en los vacunados contra la hepatitis B (Van Herck et al., 1998), por lo que es necesario realizar el seguimiento a largo plazo de otros estudios para conocer la persistencia de memoria inmunológica que la vacuna cubana es capaz de inducir a través del tiempo.

La MGT obtenida en la muestra de niños de 1 a 5 años fue de 193,4 UI/L. Si nos remitimos a que solo es necesario 10 UI/L para la protección contra la infección por el VHB; entonces esta cifra da la medida de la calidad de vacuna cuando es capaz de generar una respuesta casi 20 veces por encima de lo estrictamente necesario para cumplimentar su objetivo. La MGT estuvo en todos los grupos del estudio por encima de 100 UI/L. al igual que en los resultados publicados por Almeida y colaboradores en 1997, y disminuyó gradualmente del grupo de niños de un año al de cinco años de edad (de 392,5 UI/L a 127,3 UI/L).

Finalmente podemos expresar que la principal conclusión que genera este estudio es la capacidad de la vacuna cubana contra la hepatitis B para provocar una respuesta protectora ante el VHB, pues el 96.8% de los niños cubanos entre uno y cinco años se encontraron protegidos contra la infección por el VHB después de la vacunación con Heberbiovac HB. La MGT encontrada en la muestra de 1 a 5 años fue de 193,4UI/L, cifra casi 20 veces el valor protector mínimo. Este resultado junto a que cerca del 80% de los títulos de anti-HBs se encuentran por encima de 100 UI/L y que el 95.4% de los vacunados se mantienen protegidos cinco años después de la última dosis, da la medida de la adecuada calidad de la vacuna como producto.

## ***CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES***

- La vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B generó una respuesta inmune elevada en diferentes grupos específicos, similar a las mejores vacunas de su tipo disponibles en el momento de la realización de los estudios.
- La aplicación de sólo dos dosis de vacuna, fue capaz de generar elevados niveles de anticuerpos protectores.
- En niños y adultos se obtuvieron respuestas inmunológicas elevadas y similares, al comparar las dosis de antígenos de vacuna Heberbiovac HB recomendadas por el productor con dosis de antígenos inferiores a éstas.
- La respuesta inmune alcanzada con la vacuna Heberbiovac HB después de la aplicación del esquema primario de vacunación, fue superior a la alcanzada con la vacuna plasmática Hevac-B en el estudio comparativo en adultos sanos.
- La aplicación de una dosis de refuerzo con la vacuna cubana contra la hepatitis B, incrementó considerablemente la respuesta de anticuerpos (anti-HBs) en individuos primovacunados con la vacuna plasmática Hevac-B.
- Se comprobó que la vacuna cubana contra la hepatitis B fue capaz de generar una elevada eficacia protectora en niños impedidos físicos y mentales hasta 14 años después del comienzo de la vacunación.
- La vacuna cubana Heberbiovac HB alcanzó una elevada efectividad en hijos de madres positivas al HBsAg, en las condiciones del PNI, y sin la inoculación simultánea de Inmunoglobulina específica contra la hepatitis B.
- Se comprobó, en un extenso estudio poblacional, el elevado porcentaje de seroprotección de los niños cubanos de 1 a 5 años de edad que recibieron la vacuna Heberbiovac HB en las condiciones del PNI.

## ***CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES***

Continuar estudios de efectividad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B que permitirán:

- Optimizar el uso de la vacuna en diferentes grupos poblacionales y de alto riesgo para la infección por el VHB
- Conocer el nivel de protección de diferentes grupos poblacionales
- Profundizar en el conocimiento de la cinética de anticuerpos específicos contra el VHB que es capaz de generar la vacuna cubana a través del tiempo, para definir la necesidad de refuerzos o cambios en las estrategias del PNI

## ***CAPITULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS***

1. Acute Hepatic Failure Study Group. Failure of specific immunotherapy in fulminant type B hepatitis. *Ann Intern Med* 1997;86:272-7.
2. Aguilar A, González CA, Cinza Z, Cabrera J, Véliz G, Romero SR, et al., Phase I clinical trial in healthy adults of a nasal vaccine candidate containing recombinant hepatitis B surface and core antigen. *Int J Infect Dis* 2007;11:394-401.
3. Ajjan N. Vacunaciones de personas de edad. En: *Las Vacunaciones*. 3 ed. Lyon:Pasteur Merieux 1991:91-8.
4. Almeida JD, Zuckerman AJ, Taylor PE, Waterson AP. Immune electron microscopy of the Australia-SH (serum hepatitis) antigen. *Microbios* 1969;1:117-23.
5. Almeida R, González G, Griego G, Ramírez V. Inmunogenicidad de la vacuna cubana Heberbiovac-HB contra el VHB en un grupo de niños nacidos entre 1992 y 1996. Estudio post-comercialización. *VacciMonitor* 1997;5:1-5.
6. Ambrosch F, Frisch-Niggemeyer W, Kremsmer P. Persistence of vaccine induced antibodies to Hepatitis B surface antigen and the need for booster vaccination in adult subjects. *Postgrad Med J* 1987;63 (Suppl. 2):129-135.
7. André F, Safary A. Experience with a yeast-derived hepatitis B vaccine. Eds P.Coursaget 1990;194: 207-213.
8. André FE, Vaccinology past achievements, present roadblocks and future promises. *Vaccine* 2003;21:593-5.
9. André FE. Overview of a 5 year clinical experience with a yeast-derived hepatitis B vaccine. *Vaccine* 1990;8:S74-8
10. André FE. Summary of safety and efficacy data on a yeast-derived hepatitis B vaccine. *Am J Med* 1989;87:14.
11. Andre FE. The future of vaccines, immunisation, concepts and practice. *Vaccine* 2001;19:2206-2209.
12. André FE. Uptade of currently available results in the completed and ongoing clinical studies on Engerix B. Bélgica: Medical and Scientific Services Smith Kline 1988;RIT:16-39.

13. Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BR, Magnius LO. HBV genotype H. *J Gen Virol.* 2002; 83:2059–73.
14. Arús E, Pérez M, Franco S, Cruz A. El interferón y el ozono en el tratamiento de la hepatitis viral aguda tipo B. *Rev Gastroenterol Mex* 1994;59:102.
15. Arús E. Clínica y terapia de las hepatitis virales. En: Padrón GJ, editor. *Bases moleculares para el estudio de las hepatitis virales.* Ciudad de La Habana: Elfos Scientiae 1998. p. 43-78.
16. Bang Lin D, Wang HM, Lee YM, Ling UP, Changlai SP, Chen ChJ. Immune status in preschool children born after mass hepatitis B vaccination program in Taiwan. *Vaccine* 1998;16:1683-7.
17. Barker LF, Chisari FV, McGrath PP. Transmission of type B viral hepatitis to chimpanzees. *J Infect Dis* 1973;127:648–62.
18. Baumert TF, Rogers SA, Hasegawa K, Liang TJ. Two core promotor mutations identified in a hepatitis B virus strain associated with fulminant hepatitis result in enhanced viral replication. *J Clin Invest* 1996;98:2268-76.
19. Bayer ME, Blumberg BS, Werner B. Particles associated with Australia antigen in the sera of patients with leukaemia, Down's syndrome and hepatitis. *Nature* 1968;218(146):1057–9.
20. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1996;24:289-93.
21. Belloni C, Pistorio A, Tinelli C, Komakec J, Chirico C, Rovelli D et al. Early immunisation with hepatitis B vaccine: a five-year study. *Vaccine* 2000;18:1307-11).
22. Berk PD, Popper H. Fulminant hepatic failure. *Am J Gastroenterol* 1978;69:349–400.
23. Bernuau J, Benhamou JP. Fulminant and subfulminant liver failure. En: Bircher J, Benhamou JP, McIntyre N, editores. *Oxford Textbook of Clinical Hepatology.* 2da ed. New York: Oxford University Press 1999. p. 1341–72.
24. Bertoletti A, Sette A, Chisari F. Natural variants of cytotoxic epitopes are T-cell receptor antagonists for antiviral cytotoxic T cells. *Nature* 1994;369:407–10.



25. Bialek SR, Bower WA, Novak R, Helgenberger L, Auerbach SB, Williams IT et al. Persistence of protection against hepatitis B virus infection among adolescents vaccinated with recombinant hepatitis B vaccine beginning at birth: a 15 year follow-up study. *Pediatr Infect Dis J* 2008 Oct; 27:881-5.
26. Blumberg BS, Alter HJ, Visnick S. A new antigen in leukaemia sera. *JAMA* 1965; 191:541-6.
27. Blumberg BS, Gerstley BJS, Hungerford DA. A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia and hepatitis. *Ann Intern Med* 1967;66:924–31.
28. Blumberg BS, Krugman S, moderadores. Passive and active immunization and treatment. En: Szmuness W, Alter HJ, Maynard JE, editores. *Viral hepatitis: 1981 International Symposium*. Philadelphia: Franklin Institute Press 1982. p. 377–544.
29. Boyer ME, Blumberg BS, Werner B. Particles associated with Australia antigen in the sera of patients with leukemia, Down's syndrome and hepatitis. *Nature* 1968;218:1057–9.
30. Brunetto NM, Giarin MM, Oliveri F. Wild-type and antigen–minus hepatitis B viruses and course of chronic hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:4186–90.
31. Bye WA, Allan CH, Traer JS. Structure, distribution and origen of M cells in Payer patches of Mouse ileon. *Gastroenterology* 1984;789-801.
32. CDC. Immune globulins for protection against viral hepatitis. *MMWR* 1977;26:425-8, 441-2.
33. CDC. Immune globulins for protection against viral hepatitis. *MMWR* 1981;30:423-8, 433-5.
34. CDC. *Epidemiology and prevention of vaccine preventable diseases*. 2da ed. Atkinson W, Hamborsky J, McIntyre L, Wolfe C, editores 10ma ed. Washington DC: Department of Health and Human Services 2007. p. 211-34.
35. CDC. *Surveillance of Acute Viral Hepatitis –United States, 2007*. *MMWR* 2009;58:1-27.
36. Cinza Z, Aguilar A, Muzio V, Figueroa N, Valenzuela C, Hernández F et al. Immunogenicity and safety assessment of the Cuban reconbinant hepatitis B vaccine in healthy adults. *Biologicals* 2007; 35:115-122.

37. Committee on Infectious Diseases. Universal hepatitis B immunisation. *Paediatrics*
38. Chisari FU, Filippi P, Buras J, McLachlan A, Popper H, Pinkert CA, *et al.* Structural and pathological effects of synthesis of hepatitis B virus large envelope polypeptide in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:6909-13.
39. Chotard J, Inskip HM, Hall AJ, Loik F, Mendy M, Whittle H *et al.* The Gambia Hepatitis Intervention Study: Follow-Up of a Cohort of Children Vaccinated against Hepatitis B. *J Infec Dis* 1992;166:764-8.
40. Chyi-Feng Jan. The Hepatitis B Vaccine Booster Response Among the Youth Who Had Completed Neonatal Hepatitis B Vaccines. National Taiwan University Hospital. [citado el 16 de junio de 2009]. Disponible en: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00792610?cond=%22Hepatitis+B%22&rank=9>
41. Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet* 1970;1:695-8.
42. De Franchis R, Meucci G, Vecchi M. The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. *Ann Intern Med* 1993;118:191-4.
43. de Rave, Heijtkink RA, Bakker-Bendik M, Boot J, Schalm SW. Immunogenicity of Standard and low dose vaccination using yeast-derived recombinant hepatitis B surface antigen in elderly volunteers. *Vaccine* 1994;12:532-4.
44. Del Canho R, del, Groshide PM, Voogd-Schotanus M. Immunogenicity of two different dosages (10 and 5 µg) of recombinant DNA hepatitis B vaccine in healthy neonates. *Vaccine* 1994;12(4):1323-6.
45. Delves PJ, Roitt IM. Advances in immunology: the immune system. *N Engl J Med* 2000;343:108-17.
46. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994;19:1513-20.
47. Díaz M, Chiang A, Díaz D, Bravo JR, Rodríguez L, Pedroso P *et al.* Inmunogenicidad de la vacuna Heberbiovac-HB en niños. *Rev Cubana Med Trop* 1996;48:195-9.

48. Díaz M, Navia O, Urbino A, Rodríguez L, Bravo JR, Pedroso P. Inmunogenicidad de la vacuna Heberbiovac-HB. a las dosis de 10,5 µg, 5 µg y 2,5 µg en niños escolares de 6 a 9 años de edad. *Rev Cubana Med Trop* 1999;51:46-9.
49. Dienstag JL. Extended lamivudine retreatment for chronic hepatitis B: maintenance of viral suppression after discontinuation of therapy. *Hepatology* 1999;30:1082-7.
50. Dispenzieri A, Gorevic P. Cryoglobulinemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 1999;13(6):1315-49.
51. Dodet B, Amtzen C, Plotkin S. Plant derived vaccines and antibodies: potential and limitations. *Vaccine* 2005;23:1753-6.
52. Ehreth J. The value of vaccination: a global perspective. *Vaccine* 2003; 21: 4105-17).
53. Fabrizi F, Bisegna S, Mangano S, Alongi G, Colucci P, Finazzi S, *et al.* Epatopatia e infezione da virus dell'epatite B nei pazienti in dialisi: studio trasversale. *G Ital Nefrol* 2002;19:149-54.
54. Fabrizi F, Lunghi G, Martin P. Hepatitis B infection in hemodialysis: recent discoveries. *J Nephrol* 2002;15:463-8.
55. Fagan EA, Harrison TA. *Viral hepatitis*. New York: Springer-Verlag 2000.
56. Fanous EI, Balart ZA. Recent developments in viral hepatitis. *Curr Opinion Gastroenterol* 1994;10:237-42.
57. Fattovich G. Long-term outcome of hepatitis B antigen-positive patients with compensated cirrhosis treated with interferon alfa. European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1999;26:1338-42.
58. Faustini A, Franco E, Sangalli M, Spadea T, Calabrese RM, Cauletti M. Persistence of anti-HBs 5 years after the introduction of routine infant and adolescent vaccination in Italy. *Vaccine* 2001;19:2812-18.
59. Findlay GM, MacCallum FO. Note on acute hepatitis and yellow fever immunization. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1937;31:297-308.
60. Fox JP, Manso C, Penna HA, Para M. Observations on occurrence of icterus in Brazil following vaccination against yellow fever. *Am J Hyg.* 1942;36:63-116.
61. Galbán E, Bravo JR, Castañeda C, Toledo G, González A, Delgado MG. Ensayo de campo de la vacuna recombinante cubana contra la Hepatitis B (Heberbiovac-HB):

- estudio en recién nacidos hijos de madres HBsAg +. *Rev Cubana Med Trop* 1992; 44:149-57.
62. Galbán E, Rodríguez N, Toledo G, Sotto A, Catañeda C. Encuesta nacional de prevalencia de anticuerpos Delta. Cuba 1988. *Rev Cubana Hig Epidemiol* 1990;28:141-52.
  63. Galbán E, Bravo JR. Ensayo de campo de la vacuna recombinante cubana contra la Hepatitis B: Informe técnico. Ciudad de la Habana 1991.
  64. Galli M, Monti G, Monteverde A. Hepatitis C virus and mixed cryoglobulinaemias. *Lancet* 1992;339:989.
  65. Ganem D, Schneider RJ. Hepadnaviridae: the viruses and their replication. En: Knipe DM, editor. *Field's Virology*. 4ta ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2001. p. 2923-69.
  66. Gavilanes F, Gonzalez-Ros JM, Peterson DL. Structure of hepatitis B surface antigen: characterization of the lipid components and their association with the viral proteins. *J Biol Chem* 1982;257:7770-7.
  67. Gerlich W. Hepatitis B surface proteins. *J Hepatol* 1991;13(4 Suppl):S90-2.
  68. Gerlich WH, Luer W, Thomssen R, The Study Group for Viral Hepatitis of the Deutsche Forschungsgemeinschaft. Diagnosis of acute and inapparent hepatitis B virus infections by measurement of IgM antibody to hepatitis B core antigen. *J Infect Dis* 1980;142:95-101.
  69. Gilks WR, Hall AJ, Day NE. Timing of booster of hepatitis B vaccine. *Lancet* 1989; 2:1273-4.
  70. Gitlin N. Hepatitis B: diagnosis, prevention, and treatment. *Clin Chem* 1997;43:1500-6.
  71. Goh KT, Tan KL, Kong KH, Oon CJ, Chan SH. Comparison of the immune response of four different dosages of a yeast-recombinant hepatitis B vaccine in Singapore children: a four-year follow up study. *Bull World Health Organ* 1992;70:233-9.
  72. González JB, Salva F, Lardinois R. A 7-year follow-up of newborns vaccinated against hepatitis B. *Vaccine* 1993;11:1033-36.

73. González MJ. Contribución a la evaluación de la vacuna recombinante cubana anti-hepatitis B.[tesis doctoral]. La Habana: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, 2001.
74. Green J. Hepatitis B mental handicap hospitals. *Lancet* 1989; Abril 15:840-2.
75. Halperin SA, Dobson S, McNeil S, Langley JM, Smith B, McCall-Sani R, et al. Comparison of the safety and immunogenicity of hepatitis B virus surface antigen co-administered with an immunostimulatory phosphorothiolate oligonucleotide and a licensed hepatitis B vaccine in healthy young adults *Vaccine* 2006;24:20-6.
76. Hammit LL, Hennessy TW, Fiore AE, Zanis C, Hummel KB, Dunaway E, et al. Hepatitis B immunity in children vaccinated with recombinant hepatitis B vaccine beginning at birth: a follow-up study at 15 years. *Vaccine* 2007 Sep 28;25:6958-64.
77. HBF Drug Watch. [citado el 29 de agosto de 2006]. Disponible en: [http://www.hepb.org/professionals/hbf\\_drug\\_watch.htm](http://www.hepb.org/professionals/hbf_drug_watch.htm).
78. Heermann K, Gerlich W. Immunology of hepatitis B virus infections. *Rheumatology Int* 1989;9:167-73.
79. Hessel L. Antibody responses to recombinant hepatitis B vaccines *Vaccine* 2002; 20:2164-5.
80. Hollinger FB, Dreesman GR. Hepatitis viruses. En: Rose NR, de Macario EC, Fahey JL, editores. *Manual of clinical laboratory immunology*. 4ta ed. Washington, DC: Am Soc Microb 1980. p. 634-50.
81. Hollinger FB, Liang TJ. Hepatitis B virus. En: Knipe DM, editor. *Field's Virology*. 4ta ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2001. p. 2971-3036.
82. Hoofnagle JH, Sep LB, Bales ZB. Serologic responses in hepatitis B. En: Vyas GN, Cohen SN, Schmid R, editores. *Viral hepatitis*. Philadelphia: Franklin Institute Press 1978. p. 219-42.
83. Hoofnagle JH. Serologic markers of hepatitis B virus infection. *Ann Rev Med* 1981;32:1-11.
84. Hu KQ. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. *J Viral Hepatol* 2002;9:243-57.

85. Iian Y, Chowdhury JR: Induction of tolerance to hepatitis B virus: ¿can we “eat the disease” and live with the virus? *Med Hypotheses* 1999;52:505-9.
86. Ishimaru Y, Ishimaru H, Toda G. An epidemic of infantile papular acrodermatitis (Gianotti's disease) in Japan associated with hepatitis-B surface antigen subtype ayw. *Lancet* 1976;1:707–9.
87. Jacques P, Moens G, Desombere I, Dewijngaert J, Leroux-Roels G, Wettendorff M, *et al.* The immunogenicity and reactogenicity of a candidate hepatitis B vaccine in an adult vaccine non-responder population. *Vaccine* 2002; 20:3644-9.
88. Jilbert AR, Botten JA, Miller DS. Characterization of age- and dose-related outcomes of duck hepatitis B virus infection. *Virology* 1998;244:273-82.
89. Juanes JR, Arrazola MP, Aragón AJ, Dávila Álvarez FM. Profilaxis de las hepatitis virales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995;13 Supl 1:62-70.
90. Juliao O, González A, Ramírez V, Rojas MC, Boschell J, Hernández *et al.* Estudio de Inmunogenicidad para dos vacunas recombinantes contra la hepatitis B comparando dos esquemas. *Biomédica* 1991; 11:1-16.
91. Jung MC, Rape GR. Immunology of hepatitis B infection. *Lancet Infect Dis* 2002;2:43-50.
92. Kang P, Shen XM, Yu HM. Study on the efficacy of genetically engineered vaccines against hepatitis B for interruption of perinatal transmission. *Zhonghua Hu Li Za Zhi* 1995; Jul 5:30:390-2.
93. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2000;118:554–9.
94. Kaplan PM, Greenman RL, Gerin JL, Alter HJ. DNA polymerase associated with human hepatitis B antigen. *J Virol* 1973;12:995-1005.
95. Kato H, Nakata K, Hamasaki K, Hida D, Ishikawa H, Aritomi T, *et al.* Long-term efficacy of immunization against hepatitis B virus in infants at high-risk analyzed by polymerase chain reaction. *Vaccine* 2000;18:581-7.
96. Kazim SN, Wakil SM, Khan LA, Hasnain SE, Sarin SK. Vertical transmission of hepatitis B virus despite maternal lamivudine therapy. *Lancet* 2002; 359: 1488-9.

97. Kazuhiro K, Guidotti LC, Yasuhiko K, Chisari FV. Natural killer T cell activation inhibits hepatitis B virus replication in vivo. *J Exp Med* 2000;192:921-30.
98. Kloster B, Kramer R, Eastlund T, Grossman B, Zarva B. Hepatitis B surface antigenemia in blood donors following vaccination. *Transfusion*. 1995;35:475-7.
99. Koziel MJ. The immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Therap Viral Hepatitis* 1998;2:53-64.
100. Kramvis A, Kew M, Francois G. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine* 2005;23:2409-23.
101. Krugman S, Giles JP, Hammond J. Hepatitis virus: effect of heat on the infectivity and antigenicity of the MS-1 and MS-2 strain. *J Infect Dis* 1970;122:423-36.
102. Krugman S, Giles JP, Hammond J. Infectious hepatitis: evidence for two distinctive clinical, epidemiological and immunological types of infection. *JAMA* 1967;200:365-73.
103. Krugman S, Giles JP. Viral Hepatitis: new light on an old disease. *JAMA* 1970;212:1019-29.
104. Kryger P, Mathiesen LR, Moller AM. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M antibody to hepatitis B core antigen. *J Clin Microbiol* 1981;13:405-9.
105. Kurstak E. Rapid progress in new vaccines development, immunisation and immunotherapy. *Vaccine* 2005;23:2024-6.
106. Kurstak E. Hacia la nueva era global de la vacunología para la prevención y control de enfermedades. *Vaccine* 2003;21:580-1.
107. Lai CL, Yeoh EK, Chang WK, Lo VWL, NgLNK. Use of the hepatitis B recombinant DNA yeast vaccine (HB-vaxII) in children: two doses vs. three doses of 5 mg regime. *J Infect* 1986;13:19-25.
108. Lai CL. Lamivudine is effective in suppressing hepatitis B virus DNA in Chinese hepatitis B surface antigen carriers: a placebo-controlled trial. *Hepatology* 1997;25:241-4.
109. Lam JYN, Wright TL. Virología molecular y patogenia de la hepatitis B. *Lancet* (ed. esp.) 1994;24:209-14.

110. Lambert V, Cova L, Chevallier P. Natural and experimental infection of wild mallard ducks with duck hepatitis B virus. *J Gen Virol* 1991;72:417-20.
111. Laporte J. R. Principios básicos de Investigación Clínica. Ediciones Ergon, S. A 1993.
112. Anónimo. Las vacunas del futuro [citado el 22 de febrero de 2008]. Disponible en: <http://www.buenasalud.com/lib/ShowDoc.cfm>.
113. Lau JY, Bain VG, Davis SE. High-level expression of hepatitis B viral antigens in fibrosing cholestatic hepatitis. *Gastroenterology* 1992;102:956–62.
114. Lin HJ. Biochemical detection of hepatitis B virus constituents. *Adv Clin Chem* 1989;27:143–99.
115. Liu ZH, Men K, Xu D. A follow-up study on correlated factors for intrauterine infection of hepatitis B virus. *Zhonghua Yo Fang Yi Xue Za Zhi* 1997; Sept 31:263-5.
116. Lohse AW, Knolle PA, Bilo K. Antigen-presenting function and B7 expression of murine sinusoidal endothelial cells and Kupffer cells. *Gastroenterology* 1996;110:1175–81.
117. Lok AS. Hepatitis B infection: pathogenesis and management. *J Hepatol* 2000;32(suppl 1):S89-97.
118. Lurman A. Eine icterusepidemie. *Berl Klin Wochenschr* 1885;22:20–3.
119. MacCallum FO. Homologous serum jaundice. *Lancet* 1947;2:691–2.
120. Mahoney FJ, Kane M. Hepatitis B vaccine. En: Plotkin SA, Orenstein WA, editores. *Vaccines*. 3ra ed. Philadelphia: Saunders 1999:158-82.
121. Manchón FO, García-Campero A, Ortiz de Urbina A, Bermejo I, Soler M. Estudios serológicos en la prevención de la infección congénita y perinatal 2004 [citado el 9 de julio de 2009]. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap4a.htm>
122. Markowitz JS. Prophylaxis against hepatitis B recurrence following liver transplantation using combination lamivudine and hepatitis B immune globulin. *Hepatology* 1998;28:585-9.



123. Marseglia G, Alibirandi A, d'Annunzio Giuseppe, Gulminetti R, Avanzini MA; Marconi M, et al. Long term persistence of anti-HBs protective levels in young patients with type I diabetes after recombinant hepatitis B vaccine. *Vaccine* 2001;19:680-3
124. McMahon BJ, Alberts SR, Wainwright RB. Hepatitis B related sequelae: prospective study in 1400 hepatitis B surface antigen-positive Alaska native carriers. *Arch Intern Med* 1990;150:1051-4.
125. McMahon BJ, Alward WLM, Hall DB. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis* 1985;151:599-603.
126. Meheus A. Risk of hepatitis B in adolescence and young adulthood. *Vaccine* 1995;13:31-4.
127. Memorandum prepared by Medical Officers of the Ministry of Health of London.. Homologous serum jaundice. *Lancet* 1943;1:83-8.
128. Milne A, Moves CA, Walcon J. Mass vaccination against hepatitis B in preschool children: immunogenicity after three reduced doses (abstract) *N Z Med J* 1989;102(874):429-30.
129. MINSAP. Dirección Nacional de Estadísticas, Cuba 2007.
130. MINSAP. Dirección Nacional de Estadísticas, Cuba 2009
131. Morales JM, Jaqueti J, Vina C. Revisión metaanalítica de la respuesta por sexo a la vacunación contra la hepatitis B en personal hospitalario. *Aten Primaria* 1993;12:99-101.
132. Moriyama K, Okamoto H, Tsuda F, Mayumi M. Reduced precore transcription and enhanced core-pregenome transcription of hepatitis B virus DNA after replacement of the precore-core promoter with sequences associated with antigen-seronegative persistent infections. *Virology* 1996;226:269-80.
133. Moulija-Pelat JP, Spiegel A, Excler JL, Martin P, Roux JF, Boutin JP, et al. Control of hepatitis B in French Polynesia with a program of systematic vaccination of newborns with the Genhevac B vaccine. *Sante* 1996 Jan-Feb;6:11-5.

134. Mumtaz B, Siddiq M. Immunogenicity and Economic Evaluation of Different Recombinant Hepatitis–B Vaccines in Different Dosages, Schedules, and routes of Administration. *Pak J Med Sci* 2008;24:833-37.
135. Music S. Towards universal childhood immunization: Why we must and how we might. *Vaccine* 2005;23:5474-77.
136. Muzio V, Pentón E. El virus de la hepatitis B. En: Padrón GJ, editor. Bases moleculares para el estudio de hepatitis virales. Ciudad de La Habana: ELFOS Scientiae 1998. p. 119-59.
137. Nardelli-Haefliger D, Kraehenbuhl JP, Curtiss R, Schodel F, Potts A, Kellu S, De-Grandi P, Oral and recta immunization of adult female volunteers with a recombinant attenuated salmonella typhi vaccine strain. *Infect-Immun* 1996;64:5219-24.
138. Navarro D, Esparcia O, Rodríguez G. Mutantes del virus de la hepatitis B en el gen s. Citado el 16 de julio del 2009. Disponible en: [http://www.seimc.org/control/revi\\_Sero/Mutavhb.htm](http://www.seimc.org/control/revi_Sero/Mutavhb.htm).
139. Norder H, Couroucé AM, Magnius LO. Complete genomes, phylogenetic relatedness and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology* 1994;198:489-503.
140. Norder H, Couroucée AM, Coursaget P, Echevarria JM, Shou-Dong Leef Isa K, Mushahwar, Betty H. Genetic Diversity of Hepatitis B Virus Strains Derived Worldwide: Genotypes, Subgenotypes, and HBsAg Subtypes. *Intervirology* 2004;47:289–309
141. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989;97:439–45.
142. Okochi K, Murakami S. Observations on Australia antigen in Japanese. *Vox Sang* 1968;15:374–85.
143. OPS. Hepatitis vírica B. En: Heymann DL, editor. El control de las enfermedades transmisibles. 18va ed. Washington, DC.: OPS, 2005. p. 333-43. Publicación Científico-Técnica no. 613.

- 144.OPS. Módulos de principios de epidemiología para el control de enfermedades. Unidad 4: Vigilancia en salud. 2da ed. Washington, DC.: OPS 2002.
- 145.Orenstein WA, Bermier RH, Hinman AR. Assessing vaccine. Efficacy in the Field. Further Observations: *Epidemiol Rev* 1988; 10:212-41
- 146.Pasko MT, Pharm D, Beam TR. Persistence of anti-HBs among Health Personnel immunized with Hepatitis B Vaccine. *Am J Public Health* 1990;80:590-3.
- 147.Pawlotsky JM. Virologic techniques for the diagnosis and monitoring of hepatitis B. *Gastroentérologie clinique et biologique*. 2008;32: S56-S63.
- 148.Peterson DL. Isolation and characterization of the major protein and glycoprotein of hepatitis B surface antigen. *J Biol Chem* 1981;256:6975–83.
- 149.Peterson DL. The structure of hepatitis B surface antigen and its antigenic sites. *Bioassays* 1987;6:258–62.
- 150.Prince AM, Szmunes W, Hargrove RL, Jefferies GH, Cherubin CE, Kellner A. The serum hepatitis virus specific antigen (SH): a status report. *Pressec Virol* 1971;7:241-06.
- 151.Prince AM. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. *Proc Natl Acad Sci* 1968;60:814–21.
- 152.Poirrez J. Some questions to be raised about the hepatitis B vaccine. *Vaccine* 2002;20:1696-8.
- 153.Pugh JC, Simmons H. Duck hepatitis B virus infection of Moscow duck hepatocytes and nature of virus resistance in vivo. *J Virol* 1994;68:2487–94.
- 154.Pujol FH, Devesa M. Geographic distribution of HBV genotypes. *J Clin Gastroenterol* 2005;39:611-8.
- 155.Pumpens P, Grens E, Nassal M. Molecular epidemiology and immunology of hepatitis B virus infection-an update. *Intervirology* 2002;45(4-6):218-32.
- 156.Rendi-Wagner P, Kundi M, Stemberger H, Wiedermann G, Holzman H, Hofer M et al. Antibody responses to recombinant hepatitis B vaccines: comparative evaluation of multicenter travel-clinic based experience. *Vaccine* 2000;19:1055-60.
- 157.Robinson WS, Clayton DA, Greenman RL. DNA of a human hepatitis B virus candidate. *J Virol* 1974;14:384–91.

158. Robinson WS, Lutwick LI. The virus of hepatitis, type B (first of two parts). *N Engl J Med* 1976;295:1168–75.
159. Robinson WS. DNA and DNA polymerase in the core of the Dane particle of hepatitis B. *Am J Med Sci* 1975;270:151–9.
160. Robinson WS. Hepatitis B virus and hepatitis D virus. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editores. *Principles and practice of infectious diseases*. 4ta ed. New York: Churchill Livingstone 1995. p. 1406-39.
161. Robinson WS. Hepatitis B viruses general features (human). En: Webster RG, Granoff A, editores. *Encyclopedia of virology*. London: Academic Press 1994. p. 554-69.
162. Rodríguez L, Delgado G, Bello M, Montalvo MC, Sariego S, Gutiérrez A. Vigilancia de las hepatitis virales: resultados de laboratorio. Cuba, 1992-2004. *Rev Cubana Med Trop*. En imprenta 2006.
163. Sánchez-Tapias JM. Hepatitis B. *Medicina Integral* 1989;14:203-11.
164. Saunders SJ, Seggie J, Kirsch RE, Terblanche J. Acute liver failure. En: Wright R, Alberti KGMM, Karran S, Millward-Sadler GH, editores. *Liver and biliary disease*. Philadelphia: Saunders 1979. p. 569–84.
165. Scotto J, Hadchouel M, Hery C. Detection of hepatitis B virus DNA in serum by a simple spot hybridization technique: comparison with results for other viral markers. *Hepatology* 1983;3:279–84.
166. Schaefer S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 14-21
167. Schreuder MP; Dean C, Boersma WJ, Pouwels PH, Klis FM. Yeast expressing hepatitis B virus surface antigen determinants on its surface: implications for a possible oral vaccine. *Vaccine* 1996;14:383-8.
168. Schumacher HR, Gall EP. Arthritis in acute hepatitis and chronic active hepatitis: Pathology of the synovial membrane with evidence for the presence of Australia antigen in synovial membranes. *Am J Med* 1974;57:655–4.

169. Seeger C, Zoulim F, Mason WS. Hepadnaviruses. En: Knipe DM y Howley PM editores. *Field's Virology*. 5ta ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2007 p 2977-3029
170. Stephenne J. Contribution to hepatitis B prevention. *Vaccine* 1992;10:900-3
171. Steven CE, Taylor PE, Tong MJ, Toy PT, Vyas GN, Nair PV, et al. Yeast-recombinant hepatitis B vaccine efficacy with hepatitis B immune globulin in prevention of perinatal hepatitis B virus transmission. *JAMA* 1987;257:2612-6
172. Summers J, O'Connell A, Millman I. Genome of hepatitis B virus: restriction enzyme cleavage and structure of DNA extracted from Dane particles. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975;72:4597-601.
173. Tang JR, Hsu HY, Lin HH, Ni YH, Chang MH. Hepatitis B surface antigenemia at birth a long-term follow-up study. *J Pediatr* 1998: Sept133:374-7.
174. Thompson S, Darlington R, Tallent D, Forsyth RL, Booster doses of hepatitis B vaccine: responses to low-dose inoculations. *Med J Aust* 1994: 158: 15.
175. Thursz MR, Kwiatkowski D, Allsopp CE. Association between an MHC class II allele and clearance of hepatitis B virus in the Gambia. *N Engl J Med* 1995;332:1065-9.
176. Tregnaghi M. Epidemiología de la hepatitis B. En: *Manual de Vacunas en Pediatría*. 2da ed. Latinoamericana. Comité Asesor de vacunas 2002. p.116-7.
177. Trivello R, Chiaramonte M, Baldo V, Majori S, Moschen ME. Persistence of anti-HBs antibodies in health care personnel vaccinated with plasma-derived hepatitis B vaccine and response to recombinant DNA HB booster vaccine. *Vaccine* 1995; 13:139-41.
178. Tsega E, Taffesse B. Immunogenicity, reactogenicity and comparison of two doses of recombinant DNA, yeast derived hepatitis B vaccine in Ethiopian children.. *Med Trop* 1992;43:7-220.
179. ul-Haq Najib, Hasnain S, Umar M, Abbas Z, Valenzuela-Silva C, López-Saura P. Immunogenicity of 10 and 20 µg hepatitis B vaccine in a two-dose Schedule 2003;21:3179-85.

180. Valdés R, Gómez L, Padilla S, Brito J, Reyes B, Alvarez T et al. Large scale purification of an antibody directed against hepatitis B surface antigen from transgenic tobacco plants. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2003; 308:94-100.
181. Van Herck K, Van Damme P, Thoelen S, Meheus A. Long-term persistence of anti-HBs after vaccination with a recombinant DNA yeast-derived hepatitis B vaccine: 8 year results. *Vaccine* 1998;16:1933-35.
182. van Steenberghe JE, Leentvaar-Kuijpers A, Baayen D, Dukers HTM, van Doornum GJJ, van den Hoek JAR. Evaluation of the hepatitis B antenatal screening and neonatal immunization program in Amsterdam, 1993-1998. *Vaccine* 2002;20:7-11.
183. van Zooneveld M, van Nunen AB, Niesters HG, de Man RA, Schaim SW, Janseen HL. Lamivudine treatment during pregnancy to prevent perinatal transmission of hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 2003; 10:294-7.
184. Vaquero JL, Lama J, Cortejoso B, Moro J. Índice estaturoponderal y respuesta a la vacuna antihepatitis B inyectada en la zona glútea. *Med Clin Barc* 1987;88:534-6.
185. Viral Hepatitis Prevention Board. Universal HB immunization by 1997: where are we now?, 1998: Fact Sheet VHPB/ 1998/2 [citado el 2 de febrero de 2008]. Disponible en: <http://hgins.uia.ac.be/esoc/VHPB/vhfs2.html> .
186. Vranckx R, Alisjabbana A, Meheus A. Hepatitis B virus vaccination and antenatal transmission of HBV markers to neonates. *J Viral Hepat* 1999; Mar 6: 135-9.
187. Vriheit RE, Kane MA, Muller N, Schatz GC, Bezabet Shewit. Infant and adolescent hepatitis B immunization up to 1999: a global overview. *Vaccine* 2001;19:1026-37.
188. Weiss TD, Tsai CC, Baldassare AR, Zuckner J. Skin lesions in viral hepatitis. *Am J Med* 1978;64:269-73.
189. Weiss TD, Tsai CC, Baldassare AR, Zuckner J. Skin lesions in viral hepatitis. *Am J Med* 1978;64:269-73.
190. Whitten TM, Quests AT, Schloemer RH. Identification of the hepatitis B virus factor that inhibits expression of the beta interferon gene. *J Virol* 1991;65:4699-704.

191. Widerman G, Ambrosh F, Kremsmer P. Reactogenicity and immunogenicity of different lots of a yeast derived hepatitis B vaccine Postgraduate Med J 1987;63(Suppl 2):109-12.
192. WHO. Control de la hepatitis viral. Bull World Health Organization 1987;65:407-11.
193. WHO/CDS/CSR/LYO/2002.2. Hepatitis B [citado el 14 de enero de 2008]. Disponible en: <http://www.who.in/topics/hepatitis/es>.
194. WHO/UNICEF Estimados regionales y globales de cobertura HepB3 1980-2006. Agosto 2007.
195. WHO. Advances in viral hepatitis: report of the WHO Expert Committee on Viral Hepatitis. Geneva: WHO 1977. WHO Technical Report Series No. 602.
196. WHO. Control de la hepatitis viral. Bulletin WHO 1987;65:407-11.
197. WHO. Introduction of hepatitis B vaccine into childhood immunization services. Geneva: World Health Organization 2001. (unpublished document WHO/V&B/01.31ñ; en request from Department of Vaccines and Biologicals, World Health Organization, 1211 Geneva 27 Switzerland.
198. WHO. Laboratory biosafety manual. 2da ed. Geneva: WHO 1993.
199. WHO. Progress in the control of the viral hepatitis: Memorandum from a WHO meeting Bulletin 1988:66.443-55.
200. WHO: Weekly epidemiological record. 2004;79:253-64.
201. WHO: Weekly epidemiological record. 2009;84:213-36.
202. Xu WM, Cui YT, Wang L, Yang H, Liang Zo, Li XM, et al. Lamivudine in late pregnancy to prevent perinatal transmission of hepatitis B virus infection: a multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled study. J Viral Hepal 2009;16:94-103.
203. Zamir C, Dagan R, Zamir D, Rishpon S, Fraser D, Ramon N et al. Evaluation of screening for hepatitis B surface antigen during pregnancy in a population with high prevalence of hepatitis B surface antigen-positive/hepatitis B e antigen negative carriers. Pediatr Infect Dis J 1999; 18: 262-6.

204. Zanetti AR, Mariano A, Romaná L, D'Amelia R, Chironna M, Coppola RC et al. Long-term immunology of hepatitis B vaccination and policy for booster: an Italian multicentre study. *Lancet* 2005;366: 1379-84.
205. Zinkernagel RM, Planz O, Ehl S. General and specific immunosuppression caused by antiviral T-cell responses. *Immunol Rev* 1999;168:305–15.
206. Zumaesta E, González A, Ramírez V, Figueroa R. Immunogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B en trabajadores de Salud del Instituto Peruano de Seguridad Social. *REv. Médica del IPSS* 1994;3:31-5.



## ***CAPÍTULO IX. BIBLIOGRAFÍA DEL AUTOR***

### **9.1. Autobiografía del autor.**

- Díaz M, Chiang A, Díaz D, Bravo JR, Rodríguez L, **Pedroso P**, Urbino A. Inmunogenicidad de la vacuna Heberbiovac-HB en niños. Rev Cubana Med Trop 1996;48:195-9.
- **Pedroso P**, Díaz M, Rodríguez L, Bravo JR. Inmunogenicidad de la vacuna Heberbiovac-HB en ancianos. Rev Cubana Med Trop 1996;48:200-3.
- **Pedroso P**, Díaz M, Rodríguez L, Bravo JR. Inmunogenicidad de la vacuna Heberbiovac-HB en impedidos físicos y mentales. Rev Cubana Med Trop 1997;49:200-3.
- Díaz M, Rodríguez L, **Pedroso P**, Urbino A. Inmunogenicidad de la vacuna Heberbiovac-HB a las dosis de 10, 5 y 2,5 µg en niños escolares de 6 a 9 años. Rev Cubana Med Trop 1999;51:46-9.
- Ortega A, **Pedroso P**, Veliz G, Delgado G, Bravo JR, Muzio V, Guillén G, Rodríguez L, Díaz M, Rosquete R, Galindo MA. Estudio de seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis B en niños cubanos de 1-5 años. Avances en Biotecnología Moderna 1999;5:33.
- **Pedroso P**, Díaz M, Rodríguez L. Persistencia de antiHBs en ancianos inmunizados con una vacuna anti hepatitis B. 2 Años de Seguimiento. Boletín SVM 2000;20:135-7.
- **Pedroso P**, Díaz M, Rodríguez L Immunogenicity of a recombinant DNA yeast-derived hepatitis B vaccine at different doses in young adults. Infec Dis Rev 2001;3:138-42.
- Rodríguez L, Bello M, Delgado G, Gutiérrez A, Diaz M, Montalvo MC, Sariego S, **Pedroso P**, Sánchez. Eficacia de la inmunización en lactantes de alto riesgo de infección por el VHB. Experiencia cubana. Rev Saludarte. Dic 2005 Mar 2006; 4:188-193.

## 9.2. Autobiografía del autor relacionada con el tema de tesis

- Díaz M, Navia O. **Pedroso P**, Bravo J, Urbino A. Reactogenicidad de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B Heberbiovac-HB a diferentes dosis en niños esclares. Rev Cubana Med Trop 1995;47:65-70.
- Díaz M, Rodríguez L, Urbino A, Bravo JR, **Pedroso P**. Reacciones adversas y respuesta inmune de la vacuna Heberbiovac HB aplicada a lactantes, simultáneamente con la DPT y la VA-MENGOC-BC. . Rev Cubana Med Trop 1997;49:196-203.
- **Pedroso P**, Díaz M, Rodríguez L. Reactogenicidad de la vacuna anti-hepatitis B Heberbiovac-HB en niños impedidos físicos y mentales Revista Peruana de Enfermedades Infecciosas y Tropicales 1998:7.
- **Pedroso P**, Díaz M Comportamiento Reactogénico de la vacuna cubana anti-hepatitis B en niños física y mentalmente incapacitados, Rev Cubana Med Gen Integr 2000;16:423-9.

## 9.3. Distinciones Científico-técnicas relacionadas con el tema de tesis

- 1992. Resultado Relevante del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK): Contribuciones al Registro Internacional de la vacuna cubana contra hepatitis B (Reacto- Inmunogenicidad de la vacuna cubana contra la hepatitis B
- 1993. Resultado Relevante del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí": Immuno-reactogenicidad de la vacuna Heberbiovac-HB a diferentes dosis en estudiantes de primaria
- 1994. Premio del IX Forum Nacional de Ciencia y Técnica: Estudio de la dosis mínima de la vacuna cubana contra hepatitis B (Heberbiovac-HB).
- 1995. Resultado Relevante del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí": Contribuciones al Registro Internacional de la vacuna cubana contra la hepatitis B.
- 1997. Resultado Relevante del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí": Eficacia de la vacuna Heberbiovac-HB en niños de madres positivas al HBsAg.

- 1997. Reconocimiento: Autor principal de uno de los 5 mejores trabajos del Premio "Francisco Javier de Balmis" en el VII Congreso Latinoamericano de Infectología Pediátrica. Trabajo titulado: Inmunogenicidad de la vacuna cubana Heberbiovac-HB en impedidos físicos y mentales. Venezuela.
- 1998. Premio en el XII Forum Nacional de Ciencia y Técnica: Eficacia de la vacuna Heberbiovac-HB en niños hijos de madres positivas al HBsAg.
- 1999. Resultado Relevante (Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología) Seroprevalencia de anticuerpos contra la hepatitis B en niños cubanos de 1-5 años.
- 2001. Premio de la Academia de Ciencias de Cuba. Estudios post-licenciamiento de la vacuna cubana anti-hepatitis B Heberbiovac-HB.
- 2001. Resultado Relevante y Distinción Especial del XIII Forum Nacional de Ciencia y Técnica por los Estudios post-licenciamiento de la vacuna cubana anti-hepatitis B Heberbiovac-HB.
- 2001. Primer Premio del Primer Evento Científico de la Filial Cubana de la Sociedad Latinoamericana de Infectología Pediátrica. Estudios Post-licenciamiento de la vacuna cubana contra la hepatitis B, Heberbiovac-HB.
- 2005. Resultado Relevante del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" Autor principal de Seguridad y respuesta inmune de una vacuna combinada cubana DPT-Heberbiovac-HB.
- 2006. Premio de la Academia de Ciencias de Cuba por el Resultado: Vacuna Tetravalente cubana (Trivac-HB).
- 2006. Premio Especial de la Academia de Ciencias de Cuba por su Impacto Social a la Vacuna Tetravalente cubana (Trivac-HB).

#### **9.4. Eventos científicos donde han sido presentados los resultados de la tesis**

1. IV Congreso Cubano de Microbiología y Parasitología y I Congreso de Medicina Tropical. Cuba, Marzo 1993. (Un trabajo).
2. III Congreso Panamericano de Epidemiología. Argentina, Octubre 1994. (Un trabajo).

3. III Congreso Brasileño, II Congreso Ibero Americano y I Congreso Latinoamericano de Epidemiología. Brasil, Diciembre 1995. (Dos trabajos).
4. IV Encuentro Gallego Cubano sobre Salud Pública y Epidemiología. Cuba, Julio 1995. (Cuatro trabajos).
5. V Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. V Congreso Cubano de Microbiología y Parasitología. II Congreso Cubano de Medicina Tropical. VI Encuentro Gallego Cubano de Salud Pública y Epidemiología. Cuba, Marzo 1997. (Seis trabajos).
6. VII Congreso Latinoamericano de Infectología Pediátrica. III Congreso Venezolano de Infectología. Venezuela, Noviembre 1997. (Un trabajo).
7. Evento Internacional Biotecnología Habana 97. Cuba, Diciembre 1997. (Cuatro trabajos).
8. Sesión Científica Conjunta de la Sociedad Cubana de Higiene y Epidemiología y el Instituto "Pedro Kourí". Cuba, Marzo 1998. (Un trabajo).
9. XVI Conferencia Científica del Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas (CIMEQ). Cuba, Marzo 1999. (Un trabajo).
10. IV Jornada Internacional de Infectología Pediátrica. I Jornada de la Filial Cuba Sociedad Latinoamericana de Infectología Pediátrica. Cuba, Abril 2001. (Un trabajo).
11. X Congreso Asociación Panamericana de Infectología. México, Mayo 2001. (Un trabajo).
12. IX Congreso Latinoamericano de Infectología Pediátrica. El Salvador, Julio 2001. (Un trabajo).
13. Convención Internacional SALUD PUBLICA Cuba, Mayo, 2002. (Un trabajo)
14. XVI Congreso Latinoamericano. VI Congreso Cubano de Microbiología y Parasitología. III Congreso Cubano de Medicina Tropical. Cuba, Noviembre, 2002. (Un trabajo).
15. Congreso "Higiene y Epidemiología 2007. Cuba, Noviembre, 2007. (Un trabajo).
16. XII Congreso Latinoamericano de Infectología Pediátrica. Costa Rica, Mayo, 2007. (Un trabajo).

17. II Internacional Symposium on Immunotherapy in Viral Hepatitis B and C. Varadero. Mayo 2008. (Un trabajo).

18. I International Congress on Pharmacology of Vaccines. Varadero Mayo 2009. (Un trabajo).

#### **Forum de Ciencia y Técnica**

- IX Forum Nacional de Ciencia y Técnica. Diciembre, Cuba, Diciembre 1994. (Un trabajo).
- XII Forum Provincial de Ciencia y Técnica .Cuba, Enero 1998. (Un trabajo).
- XII Forum Ramal Nacional de Ciencia y Técnica. Cuba, Abril 1998. (Un trabajo).
- XIII Forum Nacional de Ciencia y Técnica. Cuba, Enero 2001. (Un trabajo).

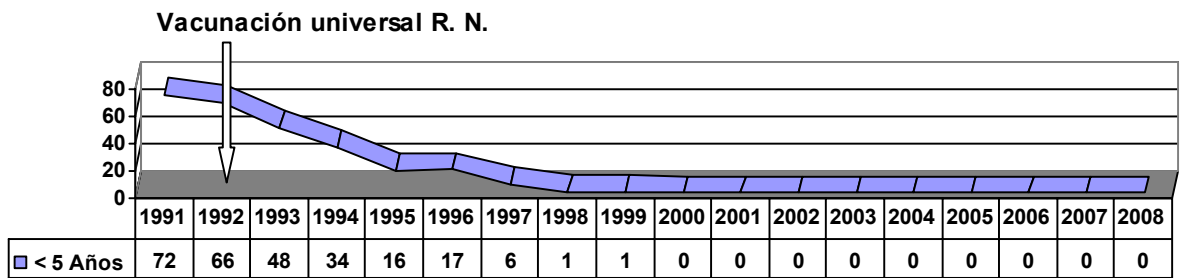
## ***CAPÍTULO X. ANEXOS***

### ***ANEXO I***

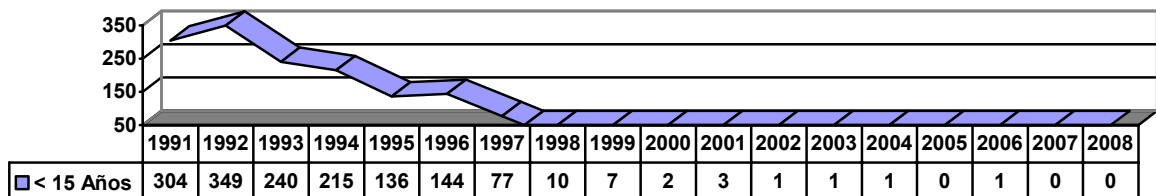
#### **Consideraciones generales e impacto de la vacunación contra la hepatitis B en la salud de la población cubana.**

Los resultados presentados en esta tesis aportan nuevos conocimientos científicos para enriquecer el registro sanitario nacional e internacional de esta vacuna reconocida ya en 40 países del mundo y contribuyeron al incremento de su aval científico y a que fuese el primer producto biotecnológico cubano que se presenta y es certificado por la OMS. De igual forma coadyuvaron a que en el 1992 fuera incluida en el PNI para todos los recién nacidos del país; a la extensión de la vacunación a diferentes grupos de personas de alto riesgo como los trabajadores de la salud pública; los pacientes hemodializados, poblaciones enteras de áreas de alta endemicidad a la infección por el VHB (Provincias de Pinar del Río, Guantánamo y del Municipio especial Isla de la Juventud), entre otros. También en el año 1993 se vacunaron más de un millón de niños menores de un año (98%) y ya en el 2000 se alcanzó una cobertura de vacunación del 100% en ese grupo de edad. Durante el período del 1994 al 1998 se les aplicó la vacuna a 631 754 niños escolares de tercer grado (95.6%) y a 424 362 escolares de noveno grado (90,1%). En nuestro país se han aplicado 13 034 608 de dosis de la vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B hasta el año 2007, y se han vacunado más de cuatro millones de cubanos (aproximadamente el 36% de la población del país), acciones que han permitido que podamos expresar que en el 2008 la población cubana menor de 27 años está inmunizada contra la hepatitis B. La vacunación realizada a los diferentes grupos poblacionales antes mencionados ha sido una medida de vital importancia para continuar mejorando el cuadro de salud de nuestra población, y está en correspondencia con la disminución de la incidencia de la hepatitis B, reportada por el MINSAP, pues a partir del año 1993 se comenzó a constatar una disminución progresiva de los casos agudos de la enfermedad, ejemplo irrefutable de ello es que desde el 2000 no se reportan casos agudos de hepatitis B en los menores 5 años y a partir del 2002 sólo uno o ningún caso en los niños de 5 a 15 años por lo que se ha interrumpido la transmisión de la hepatitis aguda B en los menores de 15 años. Es también muy importante expresar que se ha

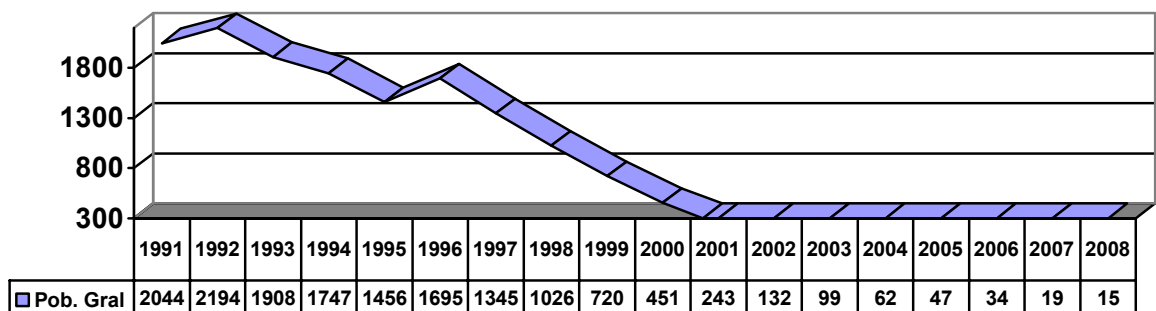
observado una marcada y drástica reducción de la enfermedad en la población general, que hasta el año 2008 fue del 99,4% en comparación con el 1991 en que aún no se había realizado la intervención, (tasa de incidencia general en el 2008 de  $0,1 \times 10^5$  habitantes comparada con la del 1991 que fue de  $19,1 \times 10^5$  habitantes) y la hepatitis viral aguda B representó en el 2008, sólo el 0,3% (15 casos) del total de las hepatitis virales en nuestro país. En mujeres embarazadas la infección por el VHB se redujo de 1,3% en 1994 a 0,1% en el 2007 (Datos disponibles del 2007). En el año 2008, la prevalencia e incidencia del VHB en hemodializados se redujeron a 0,3% y 0,04% respectivamente, muy inferior comparada con años anteriores; y la prevalencia en donantes de sangre fue de sólo el 0,4%. Por todo lo antes expuesto podemos expresar que en nuestro país están creadas las bases para la futura eliminación de la enfermedad y sus secuelas y Cuba se convertiría en uno de los primeros del mundo en alcanzar tan importante meta.



**Figura 3. Reducción de la incidencia de hepatitis viral aguda B en menores de 5 años en Cuba. 1991-2008.**



**Figura 4. Reducción de la incidencia de hepatitis viral aguda B en menores de 15 años en Cuba. 1991-2008**

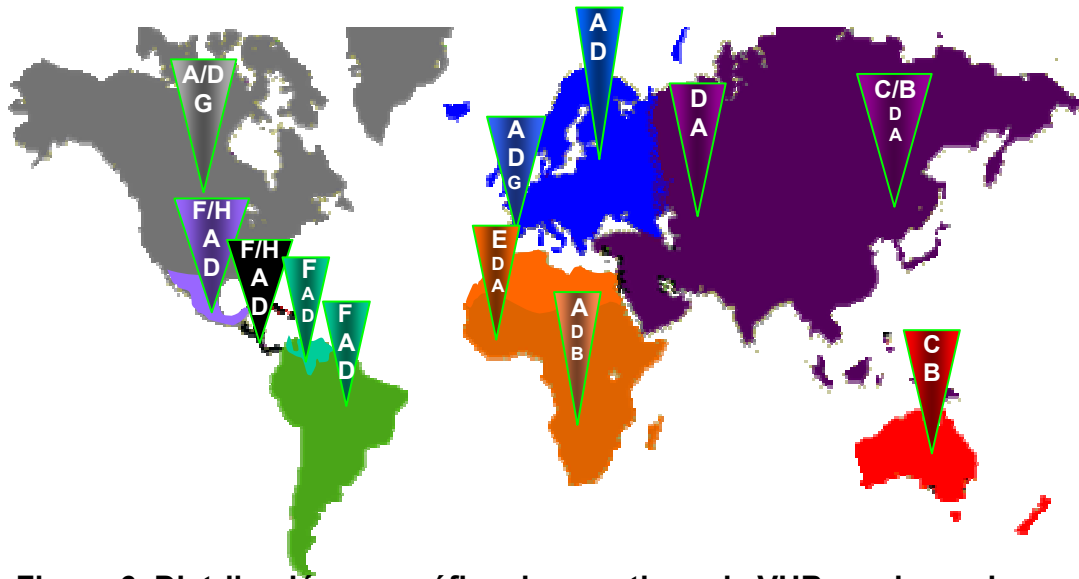


**Figura 5. Reducción de la incidencia de hepatitis viral aguda B en población general en Cuba. 1991-2008**

Fuente: Dirección Nacional de Estadística. 2009.

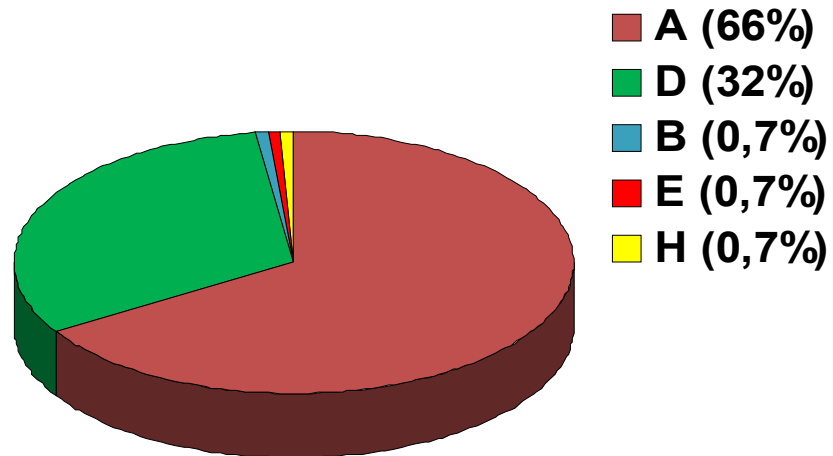


ANEXO 2



**Figura 6. Distribución geográfica de genotipos de VHB en el mundo**  
Fuente: Pujol FH and Devesa M. (2005) J Clin Gastroenterol. 39:611-8.

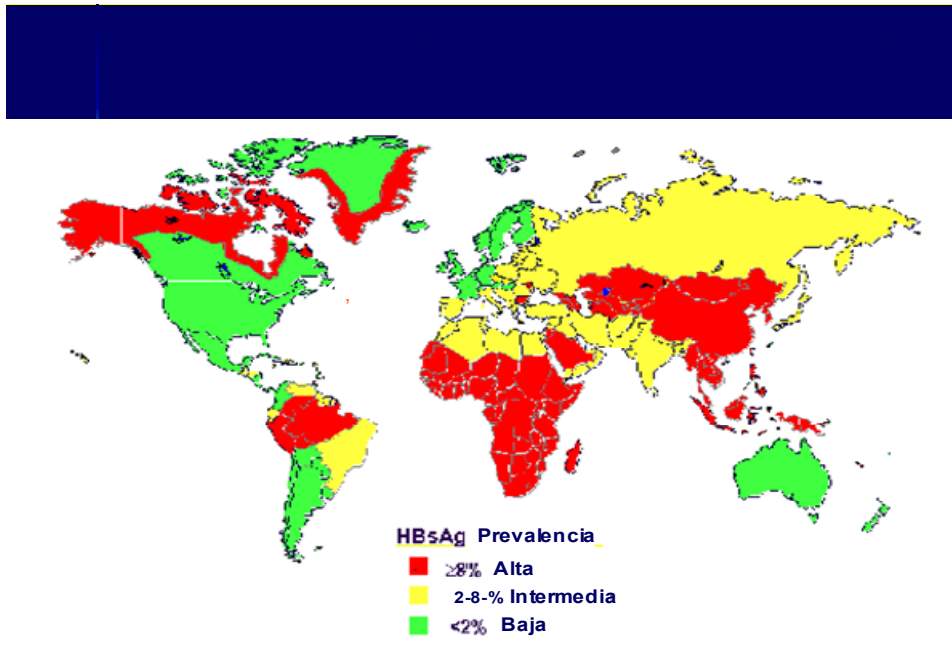
ANEXO 3



**Figura 7. Genotipos del Virus de la hepatitis B en Cuba**

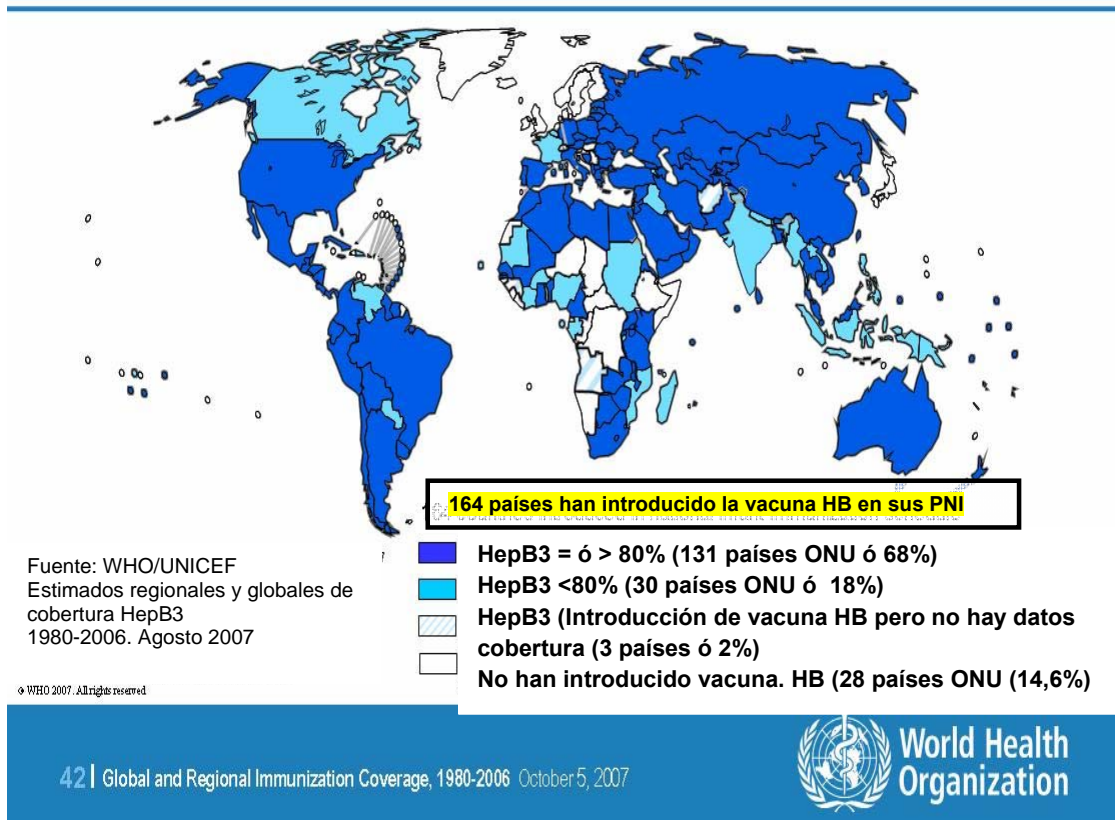
Fuente: Pujol FH. Hepatitis B virus genetic variability in Latin America. [Presentación en Symposium]. En: II International Symposium Immunotherapy of viral hepatitis B and C, Varadero. April 30 - May 3, 2008.

**ANEXO 4**



**Figura 8. Distribución mundial de la infección crónica por el VHB**

ANEXO 5



**Figura 9. Países que han introducido la vacunación contra la hepatitis B y cobertura infantil de 3 dosis de vacuna HB, 2006**

PNI: Programa Nacional de Inmunización

HepB3: Población vacunada con la tercera dosis de la vacuna contra la hepatitis B

## ANEXO 6

### Recomendaciones para la profilaxis post-exposición al VHB

La exposición accidental a sangre debe ir seguida del cumplimiento de un protocolo en el que se procederá en función de la fuente positiva, desconocida o negativa para el HBsAg y el estado serológico del accidentado (presencia de anti-HBs en el momento del accidente. Estas situaciones pueden presentarse en la vida cotidiana por diversas circunstancias: transmisión vertical, transmisión sexual desde una pareja portadora del virus, accidentes con objetos potencialmente contaminados, nosocomial o simplemente exposición laboral (CDC, 2007)

**Tabla 2. Recomendaciones para la profilaxis post-exposición al VHB**

Vacunación y estatus de anticuerpos de la persona expuesta		Tratamiento		
		Fuente: HBsAg positivo	Fuente: HBsAg negativo	Fuente: desconocida o no disponible para examinar
No vacunado		1 dosis IgHB y comenzar vacunación (3 dosis)	Iniciar vacunación (3 dosis)	Iniciar vacunación (3 dosis)
Vacunado previamente	Respondedor conocido	No tratamiento	No tratamiento	No tratamiento
	No respondedor conocido	1 dosis IGHB y comenzar vacunación (3 dosis)	No tratamiento	1 dosis IGHB y comenzar vacunación (3 dosis)
	Respuesta de anticuerpos desconocida	Examinar a la persona expuesta para respuesta de anticuerpos -Si adecuada: no tratamiento -Si inadecuada administrar 1 dosis IGHB y reactivación vacuna	No tratamiento	Examinar a la persona expuesta para respuesta de anticuerpos -Si adecuada: no tratamiento -Si inadecuada administrar reactivación vacuna y rechequear en 1-2 meses

IGHB: 0,06 ml x kg peso IM

Fuente: CDC, 2007

## ***ANEXO 7***

### **Composición de la vacuna cubana contra la hepatitis B de antígeno de superficie viral ADN recombinante (rec-HBsAg).**

Vacuna ADN Recombinante contra el virus de la hepatitis B (vacuna recombinante cubana contra la hepatitis B producida por el CIGB de la Habana, Cuba, que contiene una preparación de la proteína antigénica de superficie del virus de la hepatitis B (VHB), obtenida a partir del cultivo de una levadura transformada por la inserción en su genoma del gen que codifica para el antígeno de superficie viral, mediante procedimientos de recombinación del ADN. El producto de la expresión de este gen es extraído y purificado por una combinación de métodos físico-químicos y bioquímicos.

El antígeno de superficie purificado y obtenido agregado en forma de partículas de unos 22 nm, es adsorbido finalmente en un gel de hidróxido de aluminio y se añade Tiomersal como preservativo.

El producto final se muestra como un material que se asienta en el fondo del frasco, dando lugar a dos fases: un líquido sobrenadante claro, esencialmente libre de proteínas, constituido por la solución tamponada con fosfato con el preservativo disuelto, más un precipitado en forma de gel blanco grisáceo, compuesto por el hidróxido de aluminio con más del 98% del antígeno adsorbido. Cuando se agita se forma una suspensión grisácea opaca que se mantiene por algunos minutos y que es la forma en que debe administrarse el producto. Los procedimientos de fermentación y purificación han sido optimizados, escalados y normalizados hasta lograr consistencia y reproducibilidad de lote a lote.

**Tabla 7. Composición de la vacuna cubana contra la hepatitis B de antígeno de superficie viral ADN recombinante (rec-HBsAg).**

COMPONENTES	COMPOSICIÓN ACTUAL POR DOSIS DE 0.5 ML	COMPOSICIÓN ACTUAL POR DOSIS DE 1 ML	FUNCIÓN	NORMAS
Antígeno de superficie ADN recombinante del VHB	10 µg	20µg	Ingrediente antigénico activo 97 % de pureza	Patrón de la OMS
Gel de hidróxido de aluminio (Alhydrogel)	0,9 mg	1,8 mg	Adyuvante	Calidad según las especificaciones
Tiomersal	0,025 mg	0,05 mg	Preservante contra crecimiento bacteriano	USP y BP
Cloruro de Sodio	3,9 mg	7,9 mg	Mantener el pH y/o la fuerza iónica del medio	USP y BP
Fosfato de sodio dibásico	0,42 mg	0,85 mg	Mantener el pH y/o la fuerza iónica del medio	USP y BP
Fosfato ácido de sodio monohidratado	0,69 mg	1,39 mg	Mantener el pH y/o la fuerza iónica del medio	USP y BP
Agua para inyección hasta	Hasta 0,5 ml	Hasta 1 ml	Disolvente	USP y BP

Fuente: Heberbiotec-HB

USP= Farmacopea de los Estados Unidos de América

BP= Farmacopea Británica