

Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana

Centro Nacional de Genética Médica

Departamento de Inmunología

INMUNOGLOBULINA ANTI-HEPATITIS B CUBANA COMO ADYUVANTE BIOLÓGICO

*Dra. Victoria E. González Ramírez. Calle 17 Núm. 857 El Vedado. Ciudad de La Habana. Teléfono: 8325194.

**Dr. Antonio González Griego. Ave 31 Núm. 18207 entre 182 y 184, Cubanacán, Playa. Ciudad de La Habana.

***Dra. Victoria Ramírez Albajés, Ave. 31 Núm. 18207 entre 182 y 184, Cubanacán, Playa. Ciudad de La Habana.

****Dra. Elsa García Castillo. Hidalgo Núm. 647. Apto 31 entre San Pedro y Lombillo. Plaza. Ciudad de La Habana. Teléfono: 882 0085.

*****Dr. Josué Acosta Acosta. San Lázaro Núm. 612, 1er. piso entre Gervasio y Escobar. Centro Habana. Ciudad de La Habana. Teléfono: 8787074.

*****Lic. Ramón Caro Machado. Calle 29 Núm. 31002 entre 310 y 312 Rpto. Juan de Dios Fraga, Lisa, Ciudad de La Habana. Teléfono: 2050996.

*****Tec. Adonay Martínez. Calle 10 Núm. 106 Apto 4, entre 1ra. y 3ra. Miramar, Playa. Ciudad de La Habana. Teléfono: 2095735.

*Especialista Segundo Grado. Prof. Auxiliar Inmunología.

**Dr. en Ciencias Médicas. Prof. Titular y Principal de Inmunología.

***Especialista Segundo Grado. Instructor Inmunología.

****Especialista Segundo Grado. Profesora Auxiliar Inmunología.

*****Especialista Segundo Grado. Profesor Auxiliar Inmunología.

RESUMEN

Con el objetivo de lograr una mayor protección contra la infección por el virus productor de la hepatitis B en individuos con alto riesgo de exposición y conociendo que con la administración conjunta de la inmunoglobulina hiperinmune específica (IGHB) y de la vacuna cubana recombinante contra hepatitis B, se logra mayor protección, estudiamos 33 adultos presuntamente sanos de ambos géneros con un rango de edad entre 20 y 50 años, trabajadores de un Contingente de la construcción, a quienes se les descartó por interrogatorio, patologías degenerativas, metabólicas, infecciosas e inmunodeficiencias, que fuesen susceptibles a la infección y que no hubiesen estado en contacto con el virus.

Se conformaron dos grupos: uno de control, de 18 individuos, al que se le aplicó sólo la vacuna (20 mg por dosis) y un grupo de estudio de 15 individuos, al que se le suministró en un mismo preparado, la vacuna e inmunoglobulina (120 UI /L), combinados, que se mezclaron inmediatamente antes de su aplicación, administradas por vía intramuscular. El esquema aplicado fue 0-1-4 semanas y se realizó una evaluación antes y a los 15 días de concluido el esquema.

Se obtuvo 80 % de seroprotección en el grupo de estudio y 72 en el control. Pudiendo concluir que con la aplicación en un mismo preparado de la vacuna antihepatitis B y la IGHB como adyuvante biológico se logró una seroprotección adecuada y no se observaron efectos indeseables.

Palabras clave: Vacuna hepatitis B e IGHB, IGHB como adyuvante, seroprotección, hiperrespuesta.

INTRODUCCION

La Hepatitis viral tipo B es una enfermedad infecciosa causante de una alta morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Se estima la existencia alrededor de 350 millones de infectados por el virus de la Hepatitis B (VHB), aproximadamente 5 % de la población mundial.

El mejoramiento de los índices de salud del pueblo cubano ha sido una de las principales conquistas de nuestra Revolución y, entre ellas, el Programa Ampliado de Inmunización como la mejor forma de controlar y eliminar enfermedades, por lo que la introducción de nuevos productos vacunales constituye un reto de los científicos de hoy, y contribuye cada vez más a la protección de la población.

En nuestro país, contamos con la vacuna antihepatitis B producida por el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), desde 1991, y con un nuevo producto desarrollado por la Planta de Hemoderivados Aristides Viera, la inmunoglobulina hiperinmune contra Hepatitis B (IGHB) de reciente producción, que constituyen productos que hacen más eficaz el control de esta entidad.

El éxito de la vacunación en lo que respecta a la protección radica en obtener una respuesta inmune intensa y duradera. El límite mínimo de anticuerpos anti-antígeno de superficie de Hepatitis B (anti-HBs), aceptado como protector es de 10 UI/L. ¹ A los individuos vacunados se les considera mejor protegidos, mientras más elevados sean los valores de anticuerpos. ² Los máximos niveles de anticuerpos alcanzados después de un esquema de vacunación, son predictores de la persistencia de anti-HBs. ³

Actualmente se ha comprobado que con la administración de (IGHB) y la vacuna contra la Hepatitis B se logra mayor protección contra la infección en algunos individuos que no responden a la vacuna y que con la administración conjunta de la inmunoglobulina específica son capaces de generar una respuesta inmune adecuada. ⁴ Hoy se reporta en el mundo el uso combinado de la Gammaglobulina antihepatitis B y la vacuna, ⁵ resultados que se han corroborado ⁵ en investigaciones realizadas tanto por nuestro grupo de trabajo como por otros autores. ^{6, 7, 8, 9}

En los estudios en humanos, la selección de la población debe conllevar un beneficio final en cuanto a

protección, por lo que teniendo en cuenta las formas de transmisión muchas veces no aparentes, el carácter asintomático de la inmensa mayoría de los reservorios, ¹⁰ así como las distintas categorías de riesgo en los susceptibles (exposición, evolución y diseminación) se hace necesario desarrollar modelos que permitan ser aplicados de forma sistemática o alternativa.

Si bien la vacunación se considera hasta el momento el logro más importante en el control de la enfermedad, desafortunadamente la mayoría de las infecciones que hoy se reportan son en adultos que escapan a los programas de inmunización instituidos, por lo que podría afirmarse que sería útil la aplicación de nuevas estrategias. ^{3, 11}

Teniendo en cuenta la existencia de grupos poblacionales que escapan del PAI y que además desarrollan actividades laborales no reconocidas convencionalmente como de riesgo de exposición para esta enfermedad, pero que dadas determinadas condiciones de ubicación laboral, sí lo constituyen, como es el caso de trabajadores de la construcción vinculados a obras de la salud pública, nuestro grupo de investigación se ha dado a la tarea de inmunizar a un grupo de estos trabajadores con el propósito de lograr una rápida protección contra el virus de la Hepatitis B; para esto, nos hemos propuesto transformar en el tiempo más corto posible unapoblación susceptible de alto riesgo de exposición en una población inmune, e incrementar la inmunogenicidad de la vacuna cubana empleando de forma combinada la Inmunoglobulina hiperinmune antihepatitis B como adyuvante biológico en un esquema corto de inmunización.

METODOS

Población: 33 adultos presuntamente sanos que cumplieron los criterios de inclusión, de ambos géneros, que fueron seleccionados bajo el principio de la voluntariedad, previa explicación de la importancia del trabajo y la firma de un consentimiento informado, basados en los principios de la Bioética.

Criterios de inclusión: Adultos con un rango de edad entre 20 y 50 años, trabajadores de un Contingente de la construcción, dedicados a la reparación de obras de la Salud Pública, a quienes se les descartó por interrogatorio patologías degenerativas, metabólicas, infecciosas e inmunodeficiencias, que fuesen susceptibles a la infección y que no hubiesen estado en contacto con el virus (anticuerpos contra antígeno del core (antiHBc), anti-HBs y antígeno de superficie del virus de la Hepatitis B (HBsAg), negativos).

Criterios de exclusión: Individuos que hubieran padecido Hepatitis B o previamente inmunizados contra la Hepatitis B, alérgicos a algún componente de la vacuna, mujeres embarazadas, pacientes con diabetes, TB, enfermedades hepáticas, asma y personas con tratamientos esteroideos.

Criterios de retiro del estudio: Sujetos que tuviesen presente en los estudios serológicos iniciales algunos de los marcadores del virus de Hepatitis B (antiHBc, anti-HBs o HBsAg positivos), individuos que no cumplieran con el esquema completo de vacunación; (el cual se evaluó 15 días después de la última dosis).

Inmunógeno: Se utilizó en un mismo preparado la vacuna cubana antihepatitis B (Heberbiovac-HB) con la IGHB, que se mezclaron inmediatamente antes de su aplicación.

Se empleó la vacuna, de un mismo lote, fabricada en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Los constituyentes de esta vacuna son el antígeno de superficie ADN recombinante del VHB 20 mg/dosis, timerosal 0.038 mg/dosis y Hidróxido de Aluminio 0.48 mg/dosis.

La IGHB es una IgG que tiene como constituyentes una Inmunoglobulina humana antihepatitis B con un título mínimo de anticuerpos de 100 UI/L y glicina.

El inóculo se administró por vía intramuscular, aplicándose en el deltoides derecho de cada individuo. El esquema aplicado fue 0-1-4 semanas y se realizó una evaluación antes y a los 15 días de concluido el esquema, y se realizaron extracciones de 10 ml de sangre total a los individuos por punción venosa cubital, la cual fue centrifugada durante 5 minutos a 500 g, utilizando el suero obtenido para las técnicas analíticas. Todo el material usado en la extracción y vacunación fue estéril desechable.

Diseño del estudio: Se conformaron dos grupos al azar, utilizando tabla de números aleatorios: uno de 18 individuos como grupo control, al que se le aplicó solamente la vacuna con una dosis de 20 mg por inóculo y un grupo estudio de 15 individuos, al que se le suministró preparado de vacuna e inmunoglobulina combinados con una dosis de 20 mg / inóculo de vacuna y 1 ml de IGHB a una concentración de 120 UI/L.

Método analítico empleado: Inmunoensayo cuantitativo de tipo *sandwich* de doble antígeno para cuantificar anti-HBs y un inmunoensayo cuantitativo de tipo *sandwich* de doble anticuerpo para evaluar la presencia de HBsAg, ambos desarrollados por el Departamento de Inmunología del ICBP Victoria de Girón. [12](#), [13](#), [14](#)
Además se empleó un estuche comercial Hepanostika para la detección de anti-HBc.
La evaluación de los resultados se realizó a través de la seroprotección e hiperrespuesta, considerando 10 ó más UI/L y 100 ó más UI/L de anticuerpo anti-HBs respectivamente. [15](#)

Método estadístico utilizado: El tratamiento estadístico se realizó mediante Chi cuadrado con un nivel de significación de $p < 0.05$.

A todos los participantes se les entregó una tarjeta certificando fechas, vías de inoculación, así como la cantidad de UI/L de anti-HBs post-esquema.

RESULTADOS

Al emplear por primera vez como inóculo el preparado vacunal IGHB y vacuna Heberbiovac-HB combinadas no se observaron efectos indeseables. Los resultados en cuanto a seroprotección e hiperrespuesta en los grupos de estudio y controles se muestran en la Tabla 1.

A los individuos que no quedaron inmunizados al concluir el esquema se les administró una dosis de refuerzo con el mismo inmunógeno que recibieron anteriormente; se evaluaron a los 15 días de este último y quedaron todos inmunes con este proceder.

DISCUSION

La no aparición de efectos indeseables se corresponde con los resultados obtenidos en investigaciones anteriores, donde se han aplicado concurrentemente en sitios diferentes estos dos productos. [8](#), [9](#)

Al concluir este estudio, se observó que 25 individuos de los 33 susceptibles que participaron en el estudio quedaron inmunes, para 76% de seroprotección. Resultados que se corresponden con los obtenidos por nuestro grupo de investigación en otros estudios realizados aplicando el esquema de inmunización corto por la necesidad de protección ante una potencial exposición al virus de forma inmediata. Los valores obtenidos son discretamente superiores a los referidos por la literatura, en los que la respuesta se evaluó al mes del tercer inóculo. No obstante, los resultados de inmunogenicidad obtenidos al aplicar este tipo de esquema pudieran estar relacionados con la diferenciación y no con la inducción de la respuesta, por lo que consideramos útil realizar un estudio longitudinal en esta población.

Los trabajadores de la construcción a quienes administramos la dosis de refuerzo quedaron protegidos tan sólo en 1 mes. Evitamos, así la posibilidad de contraer una Hepatitis B al manipular todo el servicio hidrosanitario con residuales potencialmente contaminados.

El valor obtenido en seroprotección empleando sólo la vacuna (grupo control) fue de 72% y en el grupo de vacuna más IGHB (grupo estudio) fue de 80%, no existiendo diferencias significativas para las variables estudiadas; sin embargo, opinamos que el mayor porcentaje observado en el grupo estudio se debe a las características funcionales de la IgG, no sólo de transferir inmunidad, sino de fijar complemento, favoreciendo la formación de complejos inmunes junto a la vacuna, lo cual permite un mejor reconocimiento a través de los

receptores para complemento y Fc en células presentadoras de antígeno, induciendo una mejor respuesta inmune.

Podemos concluir que con la aplicación en un mismo preparado de la vacuna cubana antihepatitis B Heberbiovac-HB y la IGHB como adyuvante biológico se logró una seroprotección adecuada y no se observaron efectos indeseables con el nuevo preparado vacunal. Además, todos los participantes en el estudio quedaron seroprottegidos con el esquema inicialmente desarrollado o por la administración de una dosis de refuerzo. El esquema 0-1-4 semanas se debe aplicar de forma excepcional cuando se requiera protección inmune en corto período de tiempo.

Recomendamos emplearlo en poblaciones de alto riesgo de exposición en individuos inmunocompetentes, utilizar dosis de refuerzo (20g vía IM) en susceptibles inmunocompetentes cuando la inmunogenicidad obtenida no se corresponda con la deseada.

ABSTRACT: The Cuban anti-HBs immunoglobulinlike biological adjuvant.

With the objective of achieving a higher protection against the infection for the hepatitis B virus individuals with high infection risk and knowing that with the combined administration of the immunoglobulin specific hyper immune (IGHB) and of the Cuban recombinant hepatitis B vaccine, bigger protection is achieved, we study 33 presumably healthy adults both female and male, with an age range between 20 and 50 years, workers of a Contingent of the construction to who were discarded by interrogation: degenerative, metabolic, infectious pathologies and immunodeficiency, that went susceptible to the infection and that had not been in contact with the virus.

They conformed to two groups, one control, of 18 individuals, to which was applied the vaccine alone (20•g for dose) and a study group of 15 individuals to which was given in one; prepared the vaccine and immunoglobulin (120 UI /L, cocktails that mixed immediately before their application, administered by intramuscular route. The applied schedule was 0-1-4 weeks and an evaluation was carried out before the 15 days of having concluded the schedule.

80 % of serum protection was obtained in the study group and 72 in the control, being able to conclude that with the application of the mixed vaccine prepared of the hepatitis B vaccine and the IGHB like biological adjuvant an appropriate serum protection was achieved and adverse effects were not observed.

Key Words: Bovine hepatitis B and IGHB, IGHB like adjuvant, seroprotection, hyper-response

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 Couroucé - Pauty A M, Naret C C, Ciancino C, et al. Prevention of viral hepatitis in haemodialysis units by means of anti-HBs immunoglobulin. Transplantation and Clinical Immunology. Amsterdam: Excerpt Medical; 1978, p 77.

2 Jilg W, Schmidt M, Deinhardt F. Hepatitis B vaccination strategy for booster dose in high risk population groups. In progress in Hepatitis B immunization. Ed. Coursaget P, Tong M J. Colloque INSERM. 1990; 149: 419.

3 Diestang J L. Prevention of Hepatitis B. In American Association of Liver Diseases. Post graduate course, Viral Hepatitis A to F and update. Chicago:1994, p.11-12.

- 4 Atkinson W, Furphy L. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. The Pink Book; 4th Edition, Department of Health and Human Services; 1998, p. 199-213.
- 5 Xu DZ, Huang KL, Zhao K, Xu LF, Shi N, Yuan ZH. Vaccination with recombinant HBsAg-HBIG complex in healthy adults. *Vaccine*. 2005, 8; 23(20): 2658-6.
- 6 MWR Morb Mortal Wkly Rep. 2001 Jun 29; 50 (RR-11):1-52.(Updated U.S. Public Health Service Guidelines for the Management of Occupational Exposures to HBV, HCV, and HIV and Recommendations for Post exposure Prophylaxis).
- 7 Wahl M, Hermodsson S, Kjellman H, Iwarson S. Recovery and turnover rate of hepatitis B immunoglobulin in volunteers. *Dev Biol Stand*. 1983; 54:341-5.
- 8 González Griego A, Caro Machado R, Acosta Acosta J, González Ramírez V, García Castillo E, Santiesteban J A, et al. Estudio fase I de la gammaglobulina hiperinmune antihepatitis B con criterios de exclusión y sin éstos. *Rev Cubana Invest Biomed*. 2004;23(1): 5-10.
- 9 Acosta Acosta J, González Griego A, Caro Machado R, González Ramírez V, García Castillo E, Santiesteban J A. et al. Estudio de seguridad, fase I de ensayos clínicos, de la gammaglobulina hiperinmune antihepatitis B administrada unisitio y junto con la vacuna HBsAg recombinante: Resultados preliminares. 23 (1): 38-42.
- 10 Maruyana T, Tino S, Koike K. et al. Serology of acute exacerbating in chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*. 1993, 105: 1141-1151.
- 11 Alter J, Mast E. The epidemiology of viral Hepatitis in the United States. *Gastroenterol Clin North Ame*. 1994; 23: 437-455.
- 12 Ramírez V. Método inmunoenzimático para la cuantificación de anticuerpos anti-HBs. *Biotecnología*. 1993; 10: 102.
- 13 González Griego A, Alerm A, Vega I, Ramírez V. Quantification of the surface antigen of HBV (HBsAg) in biological samples for health care and preparative purposes. *Biotechnol Aplicada*. 1993; 10: 17.7.
- 14 Izquierdo M. Validación de un sistema inmunoenzimático (ELISA) para la cuantificación del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg). *Biotecnología*. Habana 94: 1994, v.2. p. 42.
- 15 Courouce, A.; Jungers, M. Hepatitis B vaccine in dialysis patients. *N Engl J Med*. 1984; 20:1511-1515.
- 16 Back, L. Vacciner contre l'hépatite B en 28 jours, c'est possible!. *Tropical Medicine and Parasitology*. 1993; 42: 135-139.

ANEXOS

	Grupos			
	Control		Estudio	
<u>Seroprotección</u>	13/18	72%	12/15	80%
<u>Hiperrespuesta</u>	6/18	33%	7/15	47%

$$\chi^2 \Rightarrow p < 0.05$$

Resultados de inmunogenicidad utilizando la vacuna Heberbiovac-HB sola y combinada con Inmunoglobulina hiperinmune.