

## Evaluación de la respuesta humoral a la vacuna Heberbiovac HB en pacientes hemodializados de Ciudad de La Habana

María Caridad Montalvo-Villalba<sup>1</sup>, Graciela Delgado<sup>3</sup>, Manuel Díaz<sup>2</sup>, Alberto Bali<sup>2</sup>, Marité Bello-Corredor<sup>1</sup>, Aidonis Gutiérrez-Moreno<sup>1</sup>, Susel Sariego-Frometa<sup>1</sup>, Licel de los Ángeles Rodríguez-Lay<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio Nacional de Referencia para las Hepatitis Virales, Departamento de Virología. Subdirección de Microbiología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", Habana, Cuba. <sup>2</sup> Subdirección de Epidemiología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", Habana, Cuba. <sup>3</sup> Departamento de Estadísticos. Subdirección de Higiene y Epidemiología. Ministerio de Salud Pública, Habana, Cuba

### RESUMEN

**Antecedentes.** Los pacientes en hemodiálisis constituyen un grupo de riesgo importante dentro de la epidemiología de la hepatitis B. Aunque los índices de seroconversión inducidos por la vacuna contra el virus de la hepatitis B (VHB) en estos pacientes son bajos, es indudable que su administración ha contribuido a reducir considerablemente la morbilidad y la mortalidad por esta enfermedad en los servicios de hemodiálisis (HD).

**Objetivo.** Evaluar la seroprotección inducida por la vacuna Heberbiovac HB y los factores relacionados con los niveles de anti-HBs en un grupo de pacientes en HD.

**Materiales y Métodos.** Se estudiaron 152 individuos de cinco unidades de HD en Ciudad de la Habana, quienes dieron su aprobación para participar en la encuesta serológica. Todos estaban bajo el esquema de inmunización recomendado para la vacuna Heberbiovac HB, de doble dosis (total administrada 40µg) a los 0-1-5-6-12 meses, con reactivaciones anuales. En las muestras de suero obtenidas se determinó la presencia de HBsAg, anti-HBc total y niveles de anti-HBs.

**Resultados.** El 89.5% (136/152) de los pacientes en HD tuvieron títulos protectores de anti-HBs ( $\geq 10$  UI/L), el título promedio geométrico de este marcador fue 671.8 UI/L (IC 95%: 419.8-1085.7

UI/L). Los niveles de anti-HBs protectores fueron estadísticamente asociados con las reactivaciones anuales. No se detectó correlación con edad, sexo y exposición previa al VHB.

**Conclusiones.** Estos resultados demuestran la inmunogenicidad de la vacuna Heberbiovac HB y la necesidad de mantener las medidas universales de prevención y control de la hepatitis B en estos servicios, ya que existen pacientes que, a pesar de estar incluidos en el programa de inmunización contra el virus, carecen de títulos protectores de anti-HBs.

**Palabras clave:** Virus de la Hepatitis B, hemodiálisis, Heberbiovac HB, títulos de anti-HBs

### ABSTRACT

#### Evaluation of humoral response to Heberbiovac HB in haemodialysis patients from Havana City

**Introduction.** Patients under haemodialysis are an important risk group in the epidemiology of hepatitis B. Although, seroconversion rates induced by hepatitis B virus (HBV) vaccine are lower, its contribution to the substantial reduction of the morbidity and mortality by hepatitis B in haemodialysis (HD) centres is undoubted.

**Solicitud de sobretiros:** Dra. María Caridad Montalvo-Villalba, Laboratorio Nacional de Referencia para las Hepatitis Virales, Departamento de Virología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", Habana, Cuba. Teléfono: 537-2020450 Fax: 537-2046051 Email: mcary@ipk.sld.cu

**Recibido:** el 29 de julio de 2009. **Aceptado para publicación:** el 8 de marzo de 2010

Este artículo está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb102112.pdf>

**Objective.** The aim of our study was to evaluate humoral response to Heberbiovac HB vaccine and associated factors related with anti-HBs levels in a group of patients in HD.

**Materials and Methods.** In this investigation, 152 patients from five HD units were studied, who gave their informed consent to participate in the serological and epidemiological survey. All patients were included in the immunization schedule recommended for Heberbiovac HB vaccine in HD: total dose administrated was 40µg at 0, 1, 5, 6, and 12 months, with annual reactivations. Serum samples were tested for HBsAg, total anti-HBc, and anti-HBs levels.

**Results.** Anti-HBs ( $\geq 10$ IU/L) were detected in 89.5% (136/152) patients in HD and mean geometric titers were 671.8 IU/L (CI 95%: 419.8-1085.7 IU/L). Protector titers of anti-HBs were statistically related with annual reactivations. Correlation with age, sex, and previous exposition to HBV was not found.

**Conclusions.** These findings demonstrate the immunogenicity of Heberbiovac HB vaccine and the importance of following universal measure for controlling and preventing hepatitis B in HD centres, as there are patients within the hepatitis B immunization programme without anti-HBs seroconversion.

**Key words.** Hepatitis B virus, haemodialysis (HD); Heberbiovac HB, anti-HBs titers.

## INTRODUCCIÓN

La hepatitis B constituye un problema de salud para muchos países subdesarrollados, a pesar de que existe una vacuna eficiente, segura y capaz de prevenir esta enfermedad. En especial, los pacientes con enfermedad renal crónica terminal (ERCT), que se hemodializan, constituyen uno de los grupos de riesgo más importantes dentro de la epidemiología del virus de la hepatitis B (VHB) (1). Las múltiples manipulaciones y la deficiencia inmunológica que padecen estos pacientes son factores relacionados con la exposición y la baja

respuesta humoral a la vacuna contra el virus, respectivamente (2,3).

No obstante, uno de los principales logros en el control y la prevención de la hepatitis B en las unidades de hemodiálisis (HD) fue la introducción de la inmunización anti-VHB en el programa de vacunación para estos pacientes. Además, el cumplimiento estricto de las medidas universalmente recomendadas para prevenir la infección ha sido también importante; éstas incluyen: la determinación periódica del estatus para el antígeno de superficie del VHB (HBsAg), el aislamiento integral de los pacientes HBsAg positivos, el perfeccionamiento de la pesquisa del VHB en los bancos de sangre y la administración de eritropoyetina, la que favorece hematológicamente a estos individuos, reduciendo las unidades de sangre por transfundir (4).

La eficacia de la vacuna anti-VHB en este tipo de población es baja al compararla con los sujetos sanos, debido a que desarrollan títulos de anticuerpos contra el HBsAg (anti-HBs) bajos y de corta duración (2,5). Varias estrategias se han sugerido para elevar y mantener los títulos de anti-HBs en estos pacientes, tales como: introducir modificaciones en los esquemas de inmunización en cuanto al número de dosis, concentración y ruta de administración, así como el empleo de inmunomoduladores para potenciar la respuesta inmune (6,7).

En cuanto a la prevalencia del VHB, Cuba se comporta como un país de baja endemicidad para el virus, ya que la presencia de HBsAg en donantes de sangre es 0.7%. Después de la introducción de la vacuna contra el VHB en 1992 en los servicios de HD, y de las reactivaciones anuales en 1998, la hepatitis B experimentó un decrecimiento significativo de 24.1% a 3.1%, de 1984 a 2001, respectivamente (Delgado G. Situación de la hepatitis B en Cuba. Presentado en: Taller Nacional de Hepatitis. Centro de Convenciones "Salvador Allende", junio de 2008 Ciudad de la Habana, Cuba).

La vacuna cubana Heberbiovac HB, obtenida por vía recombinante y producida por el Centro de

## Vacuna Heberbiovac HB y pacientes con hemodiálisis

Ingeniería Genética y Biotecnología de la Habana, Cuba, ha demostrado ser altamente inmunogénica, resultados que han sido avalados por estudios realizados en población abierta (8). El propósito de esta investigación fue evaluar la seroprotección inducida por la vacuna cubana anti-VHB en pacientes de HD, la calidad de la respuesta y los factores asociados con los niveles de anti-HBs.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Población estudiada

Esta investigación se realizó de noviembre de 2002 a febrero de 2003 en cinco unidades de HD de Ciudad de la Habana. Se estudiaron 152 pacientes, negativos al HBsAg y que estaban en el programa de inmunización contra la hepatitis B. Según el sexo, el universo de estudio estuvo compuesto por 40.1% (61/152) mujeres y 59.9% (91/152) varones, la edad osciló de 37 a 62 años con una media de 43.9 años. Este protocolo fue aprobado por el Comité de Ética Médica del IPK. Después de obtener el consentimiento informado de cada participante, se recogieron los datos demográficos, epidemiológicos y de vacunación en un modelo de encuesta estandarizado para este estudio.

El esquema de vacunación anti-VHB empleado en pacientes de HD es el recomendado por las autoridades de Salud Pública. En Cuba, se aplica la vacuna Heberbiovac HB (Heber Biotec; Havana), con 40  $\mu$ g (doble dosis), cinco dosis a los 0-1-5-6-12 meses, para posteriormente continuar con las reactivaciones anuales, por vía intramuscular en la región deltoidea.

#### Pruebas serológicas

En las muestras de suero se determinó la presencia de anticuerpos totales al antígeno de *core* del VHB (anti-HBc) (marcador de exposición al VHB) y los títulos de anti-HBs, empleando los estuches diagnósticos UMELISA anti-HBc total y UMELISA anti-HBs (TecnoSUMA, Centro de Inmunoensayo, Cuba) (9), respectivamente. Los niveles de anti-HBs fueron expresados como

unidades internacionales por litro (UI/L). Se consideró como criterio de protección títulos de anti-HBs  $\geq 10$  UI/L. Para evaluar la calidad de la respuesta, se clasificó como no respondedores títulos  $< 10$  UI/L, hiporrespondedores de 10-99 UI/L, normorrespondedores 100-999 UI/L e hiperrespondedores  $\geq 1000$  UI/L.

#### Análisis estadístico

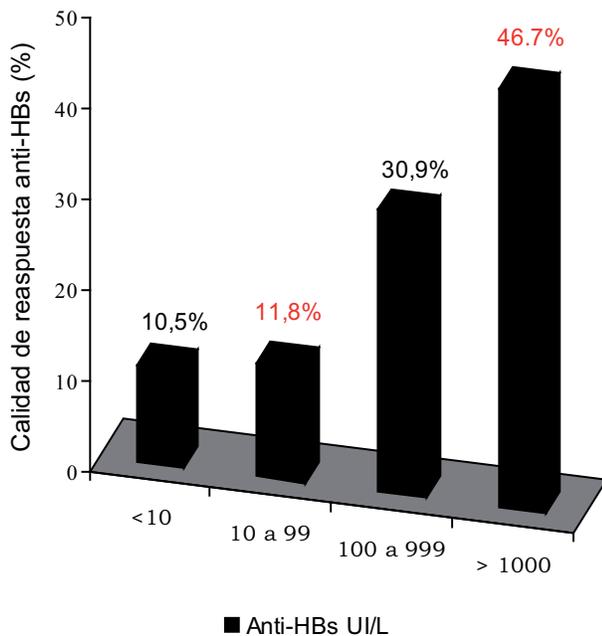
Se realizó un estudio transversal y descriptivo, donde los resultados de las encuestas epidemiológicas y de las pruebas serológicas fueron procesados por el paquete estadístico NCSS PASS 2000, versión 97. Los resultados se presentan como totales, porcentajes, media y rangos de valores. Los títulos de anti-HBs fueron transformados en escala de  $\log_{10}$  y la media geométrica de los niveles de anti-HBs fue calculada con un intervalo de confianza de 95%. El *t*-Test y el Chi-cuadrado de Mantel-Haenzel se utilizaron para comparar las variables categorizadas. El valor de  $p < 0.05$  fue tomado como significación estadística.

### RESULTADOS

De los 152 pacientes en HD inmunizados con la vacuna Heberbiovac HB y con esquema de vacunación completo, el 89.5% (136/152) quedaron seroprottegidos con títulos de anti-HBs  $\geq 10$  UI/L. Mientras que el 10.5% (16/152) de éstos carecían de niveles protectores de anti-HBs, en el momento del estudio.

El comportamiento de los niveles de anti-HBs (**Figura 1**), teniendo en cuenta la calidad de la respuesta humoral a la vacunación, fue el siguiente: 10.5% (16/152) fueron no respondedores; 11.8% (18/152) hiporrespondedores; 30.9% (47/152) normorrespondedores y 46.7% (71/152) hiperrespondedores. En total, el 77.6% (118/152) de estos pacientes tenían títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L.

Se han descrito varios factores que influyen en la seroprotección inducida por la vacuna anti-VHB. En este caso, para la vacuna Heberbiovac HB, se demostró que hubo una asociación



**Figura 1. Comportamiento de la calidad de la respuesta anti-HBs en pacientes de HD vacunados con Heberbiovac HB**

estadísticamente significativa entre los niveles de anti-HBs  $\geq 10$  UI/L y el número de reactivaciones anuales incluidas en el esquema de inmunización. De esta forma, se obtuvo que una media de 5.6 reactivaciones anuales estuvo asociada con una mayor frecuencia de títulos protectores de anti-HBs, lo que fue estadísticamente significativo ( $p= 0.0000$ ). No se detectó asociación entre los niveles protectores de anti-HBs y el sexo, la edad, la exposición previa al VHB (anti-HBc positivo) y el porcentaje de hematocrito (**Cuadro 1**).

El TPG de anti-HBs detectado en la población estudiada fue 671.8 UI/L (IC 95%: 419.8-1085.7 UI/L), los que fueron detectados dos meses después de administrada la 5a. dosis o la reactivación con la vacuna Heberbiovac HB. Este marcador estuvo estadísticamente asociado con el sexo y con el número de reactivaciones. En las mujeres se detectaron TPG significativamente más elevados que en los varones, similar a las personas con más de tres reactivaciones con la vacuna Heberbiovac HB ( $p<0.05$ ). Aunque se encontraron valores elevados de TPG de anti-HBs en personas menores de 40 años y porcentaje de hematocrito entre 30-40%, esta asociación no fue

relevante (**Cuadro 2**). El TPG de los pacientes en HD, según la positividad al anti-HBc total, no difiere ostensiblemente entre uno y otro grupo.

## DISCUSIÓN

Nuestra Salud Pública se ha propuesto trabajar en aras de lograr la eliminación de la hepatitis B en las unidades de HD; para esto, es importante disminuir la incidencia de esta enfermedad en estos servicios. La mayoría de los pacientes en HD, una vez que se infectan, se convierten en reservorios del VHB, ya que su sistema inmune es incapaz de depurar esta infección viral (10,11). Además, su calidad de vida se ve afectada, teniendo en cuenta que desarrollan hepatitis crónica, cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular (12). Por estas razones, evaluar la respuesta humoral posterior a la inmunización contra el VHB, en esta población, puede contribuir a perfeccionar las estrategias de prevención y control de la enfermedad.

La seroprotección inducida por la vacuna Heberbiovac HB en los pacientes de HD no difiere de la reportada por González-Griego y colaboradores, en un estudio realizado en el Instituto Nacional de Nefrología de la Habana, seis años después de instaurada la inmunización anti-VHB en los servicios de HD (13). Otro grupo de pacientes que comparten con los hemodializados la condición de inmunocomprometidos son los que padecen de hemopatías malignas, donde la vacuna recombinante cubana anti-VHB indujo un 78% de seroprotección (14).

En concordancia con la literatura revisada, la seroprotección inducida en los pacientes estudiados es menor que la obtenida en la población sana inmunizada con la vacuna Heberbiovac HB (89.5% vs 95%) (15,16). Índices de seroprotección de 100% se han obtenido en pacientes con ERCT con las vacunas recombinantes Engerix-B y GeneVac-B (18).

Recientemente, un ensayo con 20  $\mu$ g de la vacuna Fendrix administrada con un nuevo adyuvante indujo títulos elevados de anti-HBs en

## Vacuna Heberbiovac HB y pacientes con hemodiálisis

**Cuadro 1**  
Factores relacionados con la respuesta protectora de anti-HBs inducida por la vacuna Heberbiovac HB en pacientes de HD

Variables	Anti-HBs <10UI/L	Anti-HBs ≥10UI/L	p
<b>Edad (años)</b>			
Media	51.7	47	*N.S.
<b>Sexo</b>			
Mujeres	4	57	N.S.
Varones	12	79	
<b>Reactivaciones</b>			
Media (rangos)	2.2 (0-3.5)	5.6 (0-9)	0.0000
<b>Anti-HBc</b>			
Sí	8	83	N.S.
No	8	53	
<b>Hematocrito (%)</b>			
Media (rangos)	28.7 (24.9-31)	30.3 (27-33.5)	N.S.

\* N.S. = no significativo

**Cuadro 2**  
Variables asociadas con los TPG de anti-HBs en pacientes de HD inmunizados con la vacuna cubana Heberbiovac HB

Variables	No.	TPG <sup>†</sup> de anti-HBs	IC <sup>‡</sup> 95%
<b>Sexo</b>			
Mujeres	91	1211.9	(524.5 – 2724.3)* (198.3 – 735)
Varones	61	379.9	
<b>Edad (años)</b>			
<40	53	925.1	(387.6 – 2230.5)
40-60	65	507.7	(239.8 – 1064.2)
>60	32	340.3	(97.5 – 1199.9)
<b>Reactivaciones anuales (#)</b>			
0	11	228.1	(42.9 – 1211.9)
1-3	54	287.1	(103.5 – 1064)
>3	87	1096.6	(601.8 – 1978.3)
<b>Anti-HBc</b>			
Sí	91	533.7	(290 – 972)
No	61	735	(295 – 1844.5)
<b>Hematocrito (%)</b>			
< 20	3	84.7	(-0.85 – 888.6)
20-30	69	441.4	(206.4 – 934.4)
>30	80	862.3	(424.1 – 1737.1)

\*p<0.05 , <sup>†</sup>TPG = Títulos promedios geométricos, <sup>‡</sup>IC = Intervalo de confianza

pacientes en HD, comparado con los esquemas de doble dosis recomendado para las vacunas contra el VHB, en este tipo de población (19).

En cuanto a los pacientes no respondedores (anti-HBs < 10 UI/L), una de las causas que limita la capacidad de respuesta a la vacunación es la inmunosupresión crónica, tanto humoral como celular, que padecen estos individuos. Asimismo, la uremia provoca alteraciones en la presentación de antígenos, disminuye la activación de células T y, subsecuentemente, la producción de anticuerpos por linfocitos B (17,20). No obstante, no se pueden descartar factores de origen genético, ampliamente reportados en la literatura, que tal vez determinaron la ausencia de respuesta protectora a la inmunización contra el VHB, los que también han sido reportados en la población normal (21,22).

Se detectó una asociación significativa entre la seroprotección y el número de reactivaciones, lo que ha sido señalado por otros autores que plantean que, en los pacientes en HD, es necesario aplicar dosis de refuerzos para desarrollar y mantener títulos elevados de anti-HBs (17,23).

Con el esquema de inmunización aplicado se logró una buena respuesta de anti-HBs en los pacientes, dado que el 76.9% (117/152) tuvieron títulos de anti-HBs por encima de 100 UI/L, cifra superior a la reportada por Navarro y colaboradores, quienes detectaron que el 53.5% de los pacientes tenían niveles de anti-HBs > 100 UI/L post-vacunal (24). En tanto, valores de anti-HBs > 100 mUI/mL se detectaron en 78% y 82% de los pacientes con ERCT vacunados con Engerix y GeneVac-B, respectivamente (18). Se considera por la literatura internacional que, para garantizar una protección eficaz con la vacuna anti-VHB en pacientes hemodializados, se necesitan títulos de anti-HBs por encima de 100 UI/L (17,24,25), ya que la persistencia de anti-HBs es proporcional al pico de los niveles de anticuerpos, todo lo cual está estrechamente relacionado con la duración de la seroprotección (17,24).

Los TPG de anti-HBs obtenidos en estos pacientes fueron superiores a los reportados en

pacientes de Centros de HD de Brasil, inmunizados con la vacuna Euvax-HB, lo que contrasta con los TPG obtenidos en la población normal (2209 UI/L) (26).

Al menos, dos variables de las evaluadas en este estudio influyeron en los TPG de anti-HBs, tras la vacunación con la vacuna Heberbiovac HB. Las mujeres tuvieron TPG de anti-HBs significativamente superiores con respecto a los varones; esta observación ha sido reportada por la literatura revisada (25). Los factores hormonales probablemente justifiquen estos resultados, pues se plantea que los estrógenos estimulan la respuesta inmune mientras que los andrógenos la disminuyen (27). Sin embargo, otros investigadores no han encontrado asociación entre el sexo y la seroprotección post-vacunal con el VHB (16,22).

En cuanto a la edad, esta variable no influye significativamente en la respuesta protectora anti-HBs. No obstante, los pacientes menores de 40 años tuvieron TPG de anti-HBs superiores, con respecto a los individuos que no estaban en esta categoría. Shatat y colaboradores obtuvieron mayor protección en HD menores de 40 años (25); sin embargo, otros autores no demostraron asociación entre la respuesta anti-HBs y la edad (17,22,28).

Los pacientes con más de 3 reactivaciones anuales tuvieron TPG de anti-HBs significativamente superiores al resto, similar a lo planteado por Rodríguez y colaboradores (9). La positividad al anti-HBc total no influyó de forma significativa en la respuesta protectora, ni en los TPG anti-HBs, aunque éstos fueron ligeramente menores en los sujetos positivos para este marcador. Sin embargo, se ha reportado que los pacientes en HD, con exposición natural al VHB e inmunizados con la recombinante Engerix, desarrollaron títulos de anti-HBs protectores que persistieron estables por períodos de tiempo prolongados (28).

Los niveles de hematocrito no incidieron en la protección humoral post-vacunal; sin embargo, los pacientes con hematocrito de 30-40% tuvieron TPG de anti-HBs superiores a los HD con cifras menores

## Vacuna Heberbiovac HB y pacientes con hemodiálisis

de 30%. En correspondencia con otros estudios no observamos asociación significativa entre esta variable y los niveles de anti-HBs (17,24).

### CONCLUSIONES

Estos resultados demuestran la inmunogenicidad de la vacuna recombinante cubana Heberbiovac HB en los hemodializados estudiados. Además, el esquema de inmunización que se sigue en estos pacientes es capaz de inducir títulos elevados de anti-HBs.

Otro aporte importante es que internacionalmente existen dos estrategias para mantener o vigilar la inmunidad post-vacunal al VHB en pacientes de HD; una de ellas son las reactivaciones anuales empíricas, que se aplicaba en nuestro medio, y la otra son las determinaciones seriadas de los niveles de anti-HBs para revacunar si los títulos de anti-HBs caen por debajo de los límites de protección. Esta última se recomienda como la más efectiva en la prevención de la hepatitis B, ya que se detectan a los no protegidos, quienes no son identificados con las reactivaciones empíricas crónicas. Probablemente, la combinación de estas dos estrategias sea la adecuada para aplicar en estos pacientes, con el propósito de garantizar títulos de anti-HBs  $\geq 100$  UI/L.

En las personas que no responden a la vacuna, es preciso buscar otras vías de inmunización, esquemas de vacunación o la administración simultánea de la vacuna con factores inmunoestimulantes para potenciar la respuesta de anti-HBs post-vacunal.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado gracias al apoyo del personal médico y paramédico de las unidades de HD estudiadas. En especial, quisiéramos reconocer la colaboración brindada por los pacientes atendidos en estos servicios. Además, agradecemos al Lic. Armando Martínez Cambray por las correcciones lingüísticas.

Este proyecto fue financiado por el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" y el Ministerio de Salud Pública de Cuba, por el proyecto ramal "Perfil sero-epidemiológico de la hepatitis B en Centros de Hemodiálisis".

### REFERENCIAS

1. **Assad S, Francis A.** Over a decade of experience with a yeast recombinant hepatitis B vaccine. *Vaccine* 2000; 18:57-67.
2. **Beran J.** Safety and immunogenicity of a new hepatitis B vaccine for the protection of patients with renal insufficiency including pre-haemodialysis and haemodialysis patients. *Expert Opin Biol Ther* 2008; 8:235-47.
3. **Khamene ZR, Sepehrvand N.** The status of immunity against the hepatitis B virus among vaccinated hemodialysis patients: a single center report from Iran. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2007; 18:547-50.
4. **Recommendations for Preventing Transmisión of Infections Among Chronic Hemodialysis Patients.** *MMWR Recommendation and Reports* 2001; 50:1-43.
5. **Ramezani A, Eslamifar A, Banifazl M, Ahmadi F, Maziar S, Razeghi E, et al.** Efficacy and long-term immunogenicity of hepatitis B vaccine in haemodialysis patients. *Int J Clin Pract.* 2009; 63:394-7.
6. **Barraclough KA, Wiggins KJ, Hawley CM, van Eps CL, Mudge DW, Johnson DW, et al.** Intradermal versus intramuscular hepatitis B vaccination in hemodialysis patients: a prospective open-label randomized controlled trial in nonresponders to primary vaccination. *Am J Kidney Dis* 2009; 54:95-103.
7. **Kong NC.** A new adjuvant improves the immune response to hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2008; 73:856-62.
8. **Pedroso P, Díaz G, Rodríguez L.** Aspectos inmunogénicos de la vacuna de ADN recombinante cubana contra la Hepatitis B en adultos jóvenes. Comunicación breve. *Avances en Biotecnología moderna* 1997; 4:11-24.
9. **Rodríguez L, Balmaseda A, Bravo J, Trujillo J, Martínez L, Ochoa R, et al.** Validation of a ultramicro ELISA for detecting antibodies against hepatitis B surface antigen. *Rev Cubana Med Trop* 1996; 48:45-9.
10. **Maisonneuve P, Agodoa L, Gellert R.** Cancer in patient on dialysis for end-stage renal diseases: An international collaborative study. *Lancet* 1999; 354:93-9.
11. **Girndt M, Köhler H.** Hepatitis B virus infection in hemodialysis patients. *Semin Nephrol* 2002; 22:340-50.
12. **Burdick RA, Bragg-Gresham JL, Woods JD, Hedderwick KK, Combe C, Saito A, et al.** Pattern of hepatitis B prevalence and seroconversion in hemodialysis units from three continents: The DOPPS Kidney. *Kidney Int* 2003; 63:2222-29.
13. **González-Griego M, Pentón E, Delgado G, Pérez Oliva J, Izquierdo M, García G, et al.** Impact of an anti-hepatitis B virus (HBV) immunization program in patients undergoing dialysis in Havana, Cuba. *Invest Clin* 2000; 41:237-44.
14. **Rodríguez L, Ustariz C, Corredor M, Gutiérrez A,**

- Avila O, Delgado G. Immunogenicity of the Cuban anti-hepatitis B recombinant DNA vaccine in patients with Hematological Malignancies. *Biocología Aplicada* 2006; 23:25-27.
15. Bruguera M, Rodicio JL, Alcazar JM, Oliver A, Del Rio G, Esteban-Mur R. Effects of different dose levels and vaccination schedules on immune response to a recombinant DNA hepatitis B vaccine in haemodialysis patients. *Vaccine* 1990; 8(Suppl 1):47-9.
  16. Weinstein T, Chagnac A, Boaz M, Ori Y, Herman M, Zevin D, *et al.* Improved immunogenicity of a novel third-generation recombinant hepatitis B vaccine in patients with end-stage renal disease. *Nephron Clin Pract* 2004; 7:67-72.
  17. Vlassopoulos D. Recombinant Hepatitis B vaccination in renal failure patients. *Cur Phar Biotech* 2003; 4:141-51.
  18. Rajapurkar MM, Gang S, Dabhi M, Kulkarni PS. Comparative immunogenicity of 2 recombinant hepatitis B vaccines (GeneVac-B and Engerix-B) in adult patients with chronic renal failure. *J Nephrol* 2007; 20:596-601.
  19. Kundy M. New hepatitis B vaccine formulated with an improved adjuvant system. *Expert Opin Biol Ther* 2008; 8:235-47.
  20. Verkade MA, van Druningen CJ, Op de Hoek CT, Weimar W, Betjes MG. Decreased antigen-specific T-cell proliferation by moDC among hepatitis B vaccine non-responders on haemodialysis. *Clin Exp Med*. 2007; 7:65-71.
  21. Caillat ZS, Gimenez JJ, Wambergue F. Distinct HLA class II alleles determine antibody response to vaccination with hepatitis B surface antigens. *Kidney Int* 1998; 53:1626-30.
  22. Eardley KS, Jones HE, Osman H, Smith S. Efficacy of the accelerated hepatitis B vaccination schedule used in hemodialysis patients post-exposure to virus: a single-centre experience. *Neph Dial Trans* 2002; 17:1982-87.
  23. Chen CH, Hong CC, Leu ML, Chuang CY, Wu MS, Lai PC. Hepatitis B vaccine in hemodialysis patients with hepatitis C viral infection. *Vaccine* 1997; 15:1353-57.
  24. Peces R, De la Torre M; Alcazar R, Urra JM. Prospective analysis of the factor influencing the antibody response to hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997; 29:239-45.
  25. Shatat, HZ, Kotkat, AM, Farghaly, AG, Farghaly AG. Immune response to hepatitis B vaccine in haemodialysis patients. *J Egypt Public Health Assoc* 2000; 75:257-75.
  26. Teles SA, Martins RM, Lopes CL, dos Santos MA, Souza KP, Yoshida CF. Immunogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine (Euvax-B) in haemodialysis patients and staff. *Eur J Epid* 2001; 17:145-149.
  27. Tanriverdi F, Silveira LF, MacColl GS, Bouloux PM. The hypothalamic-pituitary-gonadal axis: immune function and autoimmunity. *J Endocrinol* 2003; 176:293-304.
  28. Tsouchnikas I, Dounousi E, Xanthopoulou K, Papakonstantinou S, Thomoglou V, Tsakiris D. Loss of hepatitis B immunity in hemodialysis patients acquired either naturally or after vaccination. *Clin Nephrol* 2007; 68:228-34.