

Resúmenes Conferencias

Simposio 1. Básico-Aplicados

Tribunal: Gustavo Sierra, Ana B Pérez y Rolando Sánchez

CM. Inducción activa de anticuerpos citotóxicos anti-NeuGcGM3 en pacientes de cáncer de pulmón de células no pequeñas tratados con el anticuerpo anti-idiotípico 1E10. AM Hernández*, N Rodríguez, JE González¹, E Reyes², T Rondón, T Griñán, A Macías, S Alfonso³, AM Vázquez, R Pérez. CIM; ¹CPHR; ²Laboratorio Central de Criminalística, La Habana; ³Hospital Celestino González Robau, Villa Clara, Cuba. *anita@cim.sld.cu

Introducción. El AcM 1E10 es un Ac anti-idiotípico murino específico por el AcM P3, el cual reconoce gangliósidos N-glicolilados, antígenos que no se expresan naturalmente en los tejidos normales humanos pero que se sobreexpresan en diversos tumores. **Objetivo.** Estudiar la respuesta inmune inducida en 20 pacientes de cáncer de pulmón de células no pequeñas tratados con el AcM 1E10/ Alúmina. **Resultados.** En 16 de los 20 pacientes se indujo una fuerte respuesta específica de isotipo, tanto IgM como IgG, contra el NeuGcGM3. Estos anticuerpos fueron capaces no solo de reconocer líneas tumorales que expresan este antígeno, sino también de inducir la muerte directa de las mismas por un mecanismo independiente del complemento. Esta citotoxicidad está medida por un mecanismo diferente de la apoptosis, ya que es independiente de la temperatura, no induce la expresión de caspasa 3 ni agregación de la cromatina y el patrón de degradación de ADN observado, difiere del característico para los procesos apoptóticos. Es un proceso muy rápido, que involucra el reordenamiento del citoesqueleto. En las células incubadas con los sueros de los pacientes se generan grandes lesiones de membrana que permiten la salida del citoplasma, inflamación celular y finalmente la pérdida de la integridad de la membrana. Todas estas características pueden asociarse con un proceso de oncosis. **Conclusiones.** Este es el primer reporte de la inducción activa de anticuerpos anti-NeuGcGM3, con estas características, en pacientes con cáncer. Aquellos pacientes que desarrollaron respuesta de anticuerpos contra el NeuGcGM3 mostraron tiempos de supervivencia significativamente superiores.

Mecanismos no convencionales de acción antitumoral de un anticuerpo específico por el receptor del factor de crecimiento epidérmico. A Rabasa*, G Garrido, MV López, R Blanco, B Sánchez, A López, DR Hernández, R Pérez, LE Fernández. CIM, La Habana, Cuba. *ailem@cim.sld.cu

Introducción. Actualmente, los anticuerpos monoclonales específicos por el receptor del factor de crecimiento epidérmico (REGF) constituyen una estrategia muy prometedora para el tratamiento de pacientes con tumores metastásicos. Sin embargo, los mecanismos inmunológicos asociados a este efecto no han sido completamente dilucidados. **Objetivos.** Estudiar la capacidad de agentes pasivos anti-REGF de promover una respuesta inmune adaptativa y los mecanismos involucrados en esta activación. **Resultados.** Se evaluó la respuesta de células T efectoras inducida por el anticuerpo monoclonal 7A7 y el inhibidor de la actividad cinasa del receptor, AG1478. Nuestros experimentos demostraron que a diferencia del anticuerpo monoclonal 7A7, el potente efecto anti-metastático del inhibidor no depende de las células T. Adicionalmente, el tratamiento con el anticuerpo induce una respuesta de células T CD8⁺ específicas por el REGF y otros antígenos tumorales, así como incrementa el número de estas células infiltrantes en los pulmones de los ratones tratados. Se demostró que las células muertas en respuesta al tratamiento con el anticuerpo 7A7, activan células T citotóxicas específicas por el tumor e inducen la maduración de las células dendríticas. Experimentos realizados con el fragmento F(ab')₂ del 7A7 demostraron que la inducción de esta respuesta es independiente de la región Fc del anticuerpo. **Conclusiones.** Este es el primer informe de la inducción de una respuesta inmune específica mediada por un anticuerpo monoclonal anti-REGF como consecuencia de la muerte celular inmunogénica provocada por la inhibición del receptor por la región F(ab')₂ del anticuerpo.

AcM P3: anticuerpo anti-NeuGcGM3 con propiedades inmunorreguladoras. D Martínez*, N Rodríguez, T Griñán, T Rondón, TL Rothstein¹, AM Vázquez, R Pérez, AM Hernández. CIM, La Habana, Cuba; ¹Feinstein Institute of Medical Research, New York, USA. *darel@cim.sld.cu

Introducción. El anticuerpo monoclonal anti-NeuGcGM3 P3 (IgM, ϵ) posee la poco frecuente habilidad de desencadenar una respuesta de anticuerpos de isotipo IgG en el modelo singénico BALB/c, al ser administrado en ausencia de adyuvante o de una proteína transportadora. Aunque se conoce su participación en redes idiotípicas el mecanismo por el cual el AcM P3 activa al sistema inmune es desconocido. **Objetivo.** Determinar si la alta inmunogenicidad del AcM P3 en el modelo singénico depende de la participación de células B1 y T. **Resultados.** Se demostró que la participación de las células B1 y T, tanto CD4⁺ como CD8⁺, es necesaria para la inmunogenicidad del AcM P3 en el modelo singénico. Se

evidenció en experimentos *in vitro* que el AcM P3 es capaz de aumentar los marcadores de activación en células B1, mientras que induce la secreción *in vitro* de IgM solo en las células B2. Se demostró la capacidad del AcM P3 de recuperar ambas poblaciones de células T en ratones a los que se les provocó linfopenia mediante un tratamiento con ciclofosfamida. Se constató que la inmunización con el AcM P3 permitió, en ratones BALB/c inmunosuprimidos por la inoculación del tumor singénico F3II, recuperar la capacidad de rechazar tumores alogénicos, un mecanismo mediado por la acción de células T CD8⁺. **Conclusión.** La participación de las células B1 así como de ambas poblaciones T es indispensable para la alta inmunogenicidad del AcM P3 en el modelo singénico.

Obtención de una variante mutada de un anticuerpo anti-gangliósidos N-glicolilados con mayor reactividad y propiedades citotóxicas. Y Fernández*, T Hernández, L Roque, A Talavera, E Moreno, T Griñán, AM Vázquez, C Mateo de Acosta, R Pérez, A López. CIM, La Habana, Cuba. yuniel@cim.sld.cu

Introducción. Los gangliósidos son glicoesfingolípidos que contienen ácido siálico. En los humanos, la expresión de la variante N-glicolilada del ácido siálico (Neu5Gc) se ha asociado con la transformación maligna, por lo que constituye una diana atractiva para la inmunoterapia del cáncer. El anticuerpo monoclonal (AcM) P3 reconoce gangliósidos que contienen Neu5Gc, así como sulfátidos. Se ha demostrado que los residuos de arginina del CDR3 de su cadena pesada (H-CDR3) son cruciales para el reconocimiento del gangliósido N-glicolil-GM3 (GM3(Neu5Gc)), pero son menos importantes para la unión a sus anticuerpos anti-idiotipo. **Objetivo.** Describir el efecto sobre la reactividad del anticuerpo de diferentes mutaciones de un único residuo del H-CDR3. **Resultados.** La sustitución del glutamato 99 (numeración de Kabat) por residuos de arginina, aspartato o serina, fue irrelevante para la unión a los anti-idiotipo. Sin embargo, la primera mutación provocó un incremento en la reactividad con los ligandos glicolipídicos, incluido un efecto citotóxico del anticuerpo sobre células que expresan el GM3(Neu5Gc), no observado con el anticuerpo original. Otro anticuerpo que reconoce al GM3(Neu5Gc), pero no otros glicolípidos, denominado 14F7, exhibe también un H-CDR3 enriquecido en argininas e induce muerte celular independiente del complemento. En contraste con el 14F7, para la citotoxicidad del anticuerpo mutado P3 E₉₉→R la expresión del gangliósido por las células tumorales no fue imprescindible, pero sí la de sialoconjugados de Neu5Gc. **Conclusión.** Mediante el diseño racional de una variante mutada más reactiva del AcM P3, se obtuvo un anticuerpo con una actividad citotóxica sobre células tumorales.

Identificación de blancos de inhibición del VIH modulados por el Factor de Transferencia. C Fernández*, M Casillas¹, L Navea¹, A Ramírez, L López, T Paneque Y Reinoso. CIGB, La Habana; ¹LISIDA, Mayabeque, Cuba. *celia.fernandez@cigb.edu.cu

Introducción. La rápida expansión del VIH en el mundo hace imperiosa la búsqueda de fármacos efectivos en el tratamiento y prevención del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Es evidente una mejoría en la función del sistema inmune en la mayoría de los pacientes que reciben la llamada terapia antirretroviral (ART), sin embargo, parece improbable la normalización del sistema inmune y la total eliminación del virus. La ART implica toxicidad, así como la aparición de mutaciones en el VIH de los pacientes tratados, lo que se asocia al surgimiento de cepas virales resistentes al tratamiento. Otra de las dificultades de la terapia son los altos costos del tratamiento. Investigaciones recientes exploran las vías de inhibir la replicación del VIH utilizando como blanco factores celulares de los cuales depende la replicación del virus incluidas moléculas receptoras y co-receptoras, factores de transcripción, factores de ensamblaje, quimiocinas y citocinas. **Objetivo.** Identificar moléculas endógenas que puedan ser blancos terapéuticos contra la infección por VIH. **Resultados.** Utilizando un modelo de infección *in vitro* en la línea celular MT4 se demostró un efecto inhibitor del VIH en células tratadas con un extracto leucocitario nombrado factor de transferencia (FT) y se identificaron posibles moléculas mediadoras de este efecto anti-VIH del FT como el factor de necrosis tumoral alfa y los factores de transcripción NFκB y Sp1. **Conclusiones.** Estos factores celulares que influyen en el ciclo replicativo del VIH son modulados por el FT y pudieran ser blancos terapéuticos para la inhibición viral.

Caracterización de algunos marcadores de progresión rápida a sida en individuos cubanos seropositivos a VIH-1. Y Alemán*, V Kourí, Y Abrahantes, L Pérez, P A Martínez, C Correa, A Álvarez, Y Soto, C Fonseca, C Aragonés, J Pérez, D Pérez, V Calás, B Veja, Y Abad, K Van Laethem¹, A M Vandamme¹; M Moutschen². IPK, La Habana, Cuba; ¹Univ. Católica de Leuven, Leuven, Bélgica; ²Univ. Liege, Liege, Bélgica. *jcaleman@ipk.sld.cu

Introducción. La progresión rápida a SIDA se ha encontrado que pudiera relacionarse con factores inherentes al virus, inmunológicos o genéticos. Recientemente, en Cuba se ha observado una tendencia creciente de pacientes que desarrollan sida pocos años después del diagnóstico. **Objetivos.** Determinar marcadores virales asociados con progresión rápida a SIDA. **Resultados.** Se estudiaron 67 individuos infectados con VIH-1; 38 habían progresado a SIDA en menos de tres años (PR), 10 eran pacientes en estadio SIDA, que habían progresado en 8-10 años (PNSida) y 19 eran seropositivos al

VIH, asintomáticos con 3-5 años de diagnóstico (PN). Se secuenciaron fragmentos de los genes *env* y *pol* del VIH-1, se determinaron subtipos, fenotipo viral y mutaciones asociadas a resistencia antirretroviral (ARV). El Subtipo B se reportó como la variante viral más frecuente en los tres grupos estudiados (32,8%), sin embargo las formas recombinantes fueron mayoritarias en su conjunto (61,2%). Las variantes virales CRFs_BG constituyeron las formas recombinantes más frecuentes en los grupos estudiados (31,3%), y el CRF19_cpx se asoció a rápida progresión de la enfermedad ($p=0,02$). Las mutaciones virales que confieren resistencia a los ARV fueron más frecuentes en pacientes PR comparado con PN, observándose asociación significativa entre resistencia a inhibidores de proteasas y progresión rápida a sida ($p=0,05$). Los virus de los pacientes PR presentaron fenotipo viral R5X4, similar al observado en los PNsida. **Conclusión.** Existen diferentes características virales que se asocian a rápida progresión a SIDA, sin embargo los mecanismos virales son múltiples e independientes.

Respuesta inmune contra CR3, una proteína multiepitópica del VIH-1, luego de coadministrarla por las rutas intranasal/subcutánea adyuvada a diferentes compuestos. I Rodríguez*, D García, Y del C Santisteban, Y Soria, E Brown, S Scarateil¹, E Iglesias. CIGB, Habana, Cuba; ¹SEPPIC, Francia. *ingrid.rodriguez@cigb.edu.cu

Introducción. Según lo reportado en la literatura, la combinación de rutas, conduce a un aumento de la respuesta inmune celular y humoral contra un antígeno. En este sentido nuestro grupo ha desarrollado una formulación multiantigénica como posible candidato vacunal contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1). El candidato está compuesto por una proteína recombinante del VIH-1 (CR3), así como los antígenos de superficie (S) y nucleocápsida (C) del virus de la hepatitis B (VHB) que ayudan a promover una inmunodesviación Th1. **Objetivo.** Comparar el efecto adyuvante de las VLP del VHB y de la nanopartícula IMS4112 producida por SEPPIC, frente a la respuesta anti-CR3, en un esquema en ratones Balb/c que combina la inmunización nasal y la subcutánea. **Resultados.** Se observó una respuesta anti-CR3 de células secretoras de IFN- γ por ELISPOT, así como la proliferación antígeno específica de linfocitos CD8+, luego de 5 dosis, solamente en el grupo de ratones inmunizado en presencia de las VLP del VHB. Sin embargo, los niveles de anticuerpos en suero y vagina fueron similares en todos los grupos experimentales. **Conclusiones.** El análisis global de los resultados evidenció una pobre respuesta anti-CR3 en presencia de IMS4112, lo cual indica que las VLP del VHB son mejores adyuvantes Th1 para la respuesta anti-CR3 que el IMS 4112.

La infección asintomática por dengue en la población cubana confirma el papel protector de la variante RR asociada al receptor Fc γ RIIa. G García*, B Sierra, AB Pérez, E Aguirre, I Rosado¹, N González, A Izquierdo, M Pupo, D Ruíz, D Díaz, L Sánchez, B Malcheco¹, K Hirayama², MG Guzmán. IPK; ¹Centro de Genética Médica, La Habana, Cuba; ²Institute for Tropical Medicine of Nagasaki, Japón. *gmd@ipk.sld.cu

Introducción. Recientemente ha sido reconocido el papel de los receptores Fc (Fc γ R) humanos en su asociación con la susceptibilidad o resistencia a diferentes enfermedades. Específicamente la molécula Fc γ RIIa contiene un polimorfismo en la posición 131 (H/R) que fue sugerido, podría estar asociado a un menor riesgo de padecer la fiebre hemorrágica por dengue. **Objetivos.** Demostrar si existe asociación entre las variantes polimórficas del gen del receptor Fc γ RIIa y la susceptibilidad a desarrollar enfermedad por dengue. **Resultados.** Se empleó un PCR de amplificación para caracterizar las variantes polimórficas del receptor Fc γ RIIa (R/R131, H/H131 y R/H131) en muestras de ADN pertenecientes a individuos que desarrollaron los cuadros clínicos de fiebre dengue y fiebre hemorrágica del dengue, así como un grupo de individuos con infección asintomática. Las variantes genotípicas del Fc γ RIIa, así como las frecuencias alélicas fueron comparadas por una prueba de χ^2 considerando significativas las $p<0,05$. Los resultados mostraron que la variante homocigótica que codifica para la arginina (RR) está asociada a la protección al desarrollo de la fiebre hemorrágica (OR=0,09, $p=0,01$ y la variante HH mostró una asociación altamente significativa con la susceptibilidad a padecer la fiebre hemorrágica (OR=10,56, $p=0,00018$). **Conclusión.** La variante homocigótica para la arginina RR se asocia a protección contra el desarrollo de la FHD; en cambio, la variante HH se relaciona con la susceptibilidad al desarrollo de la enfermedad y posiblemente, esté favoreciendo el mecanismo de amplificación dependiente de anticuerpos.

Análisis de la expresión de MIP-1 alpha, MCP-1 y RANTES en un modelo que semeja la respuesta inmune temprana a dengue. B Sierra*, AB Pérez, G García, K Schmolke¹, E Aguirre, K Vogt¹, M Álvarez, Y Pérez, H Dieter Volk¹, MG Guzmán. IPK; ¹Institute for Medical Immunology, Charité, Berlín, Germany. *siebet@ipk.sld.cu

Introducción. El virus dengue se ha tornado endémico en las áreas tropicales y subtropicales, causando miles de casos, fundamentalmente en niños. El cuadro clínico resultante puede ir desde una infección asintomática, un cuadro clínico febril autolimitado (fiebre por dengue, FD), hasta el cuadro de fiebre hemorrágica/síndrome de choque por dengue (FHD/SCD), con peligro para la vida. Es importante conocer el impacto de la inmunidad a dengue precedente en la

respuesta inmune temprana, la cual a su vez regula la respuesta adaptativa. **Objetivo.** Evaluar la expresión de las quimoquinas CC MIP-1 α , MCP-1 y RANTES en células mononucleares periféricas de individuos con diferentes background de inmunidad a dengue, tras la infección *ex vivo* con virus D1, D2 y D3. **Resultados.** Las células mononucleares periféricas de individuos inmunes a dengue 1 y dengue 2 y de controles no inmunes a dengue se aislaron y estimularon *ex vivo* con partículas infecciosas de virus dengue por 24 h. Se aisló ARNm de las células y se analizó la expresión de los genes de MIP-1 α , MCP-1 y RANTES por PCR en tiempo real. Se demostró que una infección precedente por Dengue 1 y Dengue 2 induce una expresión significativamente mayor de MCP-1/CCL2, MIP-1 α /CCL3, pero no de RANTES en respuesta a la re- *ex vivo*. **Conclusión.** La memoria inmune modifica la respuesta temprana a la infección secundaria, probablemente modificando la inmunopatogénesis y por ende el cuadro clínico resultante.

Evaluación de la capacidad inmunoestimuladora de diferentes oligonucleótidos sobre una proteína quimérica del virus dengue-2. E Marcos*, L Hermida, L Gil, L Lazo, I Valdés, Y Romero y G Guillén. ¹CIGB, La Habana, Cuba. *ernesto.marcos@cigb.edu.cu

Introducción. El desarrollo de nuevos adyuvantes se ha centrado principalmente en la búsqueda de agonistas de los receptores de reconocimiento de patrones. En este sentido, los agonistas de los TLR-9 y TLR-3, los cuales reconocen motivos CpG no metilados del ADN bacteriano, así como ARN sintéticos de doble cadena, son ampliamente usados. **Objetivo.** Evaluar la capacidad inmunoestimuladora de diferentes oligonucleótidos, empleando una proteína recombinante compuesta por el Dominio III de la proteína de la envoltura del virus Dengue 2 fusionado a la proteína de la Cápsida del mismo virus (DIIC). Esta proteína es capaz de formar agregados de alto peso molecular al ser incubada *in vitro* con ácidos nucleicos. **Resultados.** Primeramente se desarrolló un proceso de purificación de la proteína, teniendo en cuenta su naturaleza básica y la presencia de una cola de histidina en su extremo N-terminal. A continuación se evaluaron diferentes formulaciones de la proteína purificada incubada con los oligonucleótidos en ratones y se determinó la respuesta inmune humoral y celular inducida. Como resultado se observó que la inmunogenicidad de los agregados dependió de la presencia de motivos CpG en los ácidos nucleicos evaluados, no así de la naturaleza (ADN o ARN) ni de la talla del oligo. **Conclusión.** Estas evidencias abren el camino para el empleo de estos agentes inmunoestimuladores en la búsqueda de un candidato vacunal recombinante contra el virus Dengue.

Eficacia protectora de *Mycobacterium habana* como candidato vacunal contra la tuberculosis, en un modelo experimental murino. I Valdés*, E Montoro, D Aguilar¹, R Hernández-Pando¹. IPK; ¹Laboratorio de Patología Experimental. Instituto de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", México DF. México. *Iliana@ipk.sld.cu

Introducción. *Mycobacterium habana* fue aislado en 1971 por Valdivia y cols. Años más tarde, se demostró su capacidad protectora frente a la infección experimental con *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. ulcerans* y *Leishmania donovani*. El desarrollo de nuevas vacunas antituberculosas presupone la obtención de inmunógenos con una capacidad protectora igual o mayor que la conferida por BCG, vacuna administrada actualmente contra esta enfermedad. **Objetivo.** Determinar la capacidad protectora de la vacunación con cepas de *M. habana* tras el reto experimental con *M. tuberculosis* H37Rv y genotipo Beijing. **Resultados.** La protección inducida por la vacunación con *M. habana* o BCG, en el modelo experimental no mostró diferencias estadísticamente significativas tras el reto con *M. tuberculosis* H37Rv. Sin embargo el reto con el genotipo Beijing arrojó diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la sobrevida entre los grupos de ratones vacunados con *M. habana* TMC-5135 o con BCG. Los ratones que recibieron esta última vacuna mostraron más de un 70% del área pulmonar cubierta por neumonía (en contraste con un 10% observado en el grupo que recibió *M. habana*) y un área menor de granuloma (alrededor de 8000 μ^2 versus 13500 μ^2 en los vacunados con TMC-5135). La carga bacilar recuperada a partir de los pulmones de los animales vacunados con *M. habana* TMC-5135 fue 1.5 veces menor que la del grupo control. **Conclusión.** Estos datos sugieren que la vacunación con cepas vivas de *M. habana* resulta más eficaz en la protección contra la tuberculosis experimental que la vacunación con BCG.

AFCo1 como adyuvante mucosal para enfermedades de transmisión sexual. M Cuello*, O Cabrera, K Thörn¹, M Lindqvist¹ J Persson¹, M Lastre, J Balboa, C Zayas, E González, B Romeu, AM Harandi¹, OI Pérez. Departamento de Inmunología, Instituto Finlay, Cuba; ¹Departamento de Microbiología e Inmunología, Universidad de Gotemburgo, Suecia. *mcuello@finlay.edu.cu

Introducción. Las infecciones de transmisión sexual (ITS) presentan una elevada incidencia a nivel mundial. Muchos agentes infecciosos usan la superficie mucosal como su puerta de entrada, por lo que las vacunas mucosales se han planteado como una estrategia prometedora para inducir protección mucosal ya que tienen la habilidad de inducir respuesta mucosal y sistémica. **Objetivo.** Evaluar la inmunogenicidad inducida en ratones por el AFCo1 como adyuvante contra

las ITS. **Resultados.** Se inmunizaron ratones hembras C57BL/6 por vía nasal con ACo1 coadministrado con gp160 o con gD2 o ACo1, gp160 o gD2 solos y se evaluaron en suero y lavados vaginales las respuestas de IgG, subclases de IgG (IgG1 e IgG2c) y proliferación celular. Para herpes simple tipo 2 se llegó hasta el reto con el virus. Se obtuvo respuestas significativas ($p<0,05$) de IgG e IgG1 anti-gp160 o anti-gD2 o frente a extractos de *N. gonorrhoeae* (Ng) en los animales inmunizados con el ACo1 como adyuvante. También se observó proliferación celular en células de los animales inmunizados con el ACo1 como adyuvante. En Herpes, se obtuvo un 100% de protección con el ACo1 más gD2 frente al reto con el virus. **Conclusión.** El ACo1 puede ser utilizado como adyuvante por vía nasal en futuros candidatos vacunales contra las ITS.

gD2 recombinante coadministrada con ACo1 nasal protege contra el reto con virus herpes simple tipo 2.

O Cabrera*, M Cuello, K Thörn¹, J Persson¹, M Lindqvist¹, M Lastre, J Balboa, C Zayas, E González; B Romeu, AM. Harandi¹ y O Pérez. Departamento de Inmunología, Instituto Finlay, Cuba; ¹Departamento de Microbiología e Inmunología, Universidad de Gotemburgo, Suecia. *ocabrera@finlay.edu.cu

Introducción. El virus herpes simple tipo 2 (VHS-2) es uno de los agentes transmitidos por vía sexual más frecuentes en el humano. Varios candidatos vacunales han sido evaluados; pero no han sido efectivos, por lo que aún no se cuenta con ninguna vacuna profiláctica ni terapéutica. La glicoproteína gD2 recombinante está reportada como uno de los antígenos de importancia vacunal contra este germen y su incorporación en el ACo1 y uso nasal (i.n) protege contra el reto viral. **Objetivo.** Evaluar la protección inducida en ratones por el ACo1 coadministrado con gD2 por vía i.n extendiendo así las factibilidades de formulación. **Resultados.** Ratones hembras C57BL6 inoculados con ACo1+gD2 (coadministrado), ACo1-gD2 (incorporado) o gD2 por vía i.n se emplearon para determinar la respuesta de IgG anti gD2 sérica, la proliferación celular específica y las citocinas indicadores de un patrón Th1/Th2 por citometría de flujo. Se obtuvo respuestas significativas ($p<0,05$) de IgG anti gD2, así como los mayores proliferaciones de TCD4⁺, en los inmunizados con el ACo1±gD2 de células en las muestras de animales inoculados con el ACo1 coadministrado. Se demostró altos valores de TNF γ e INF γ correspondientes a un patrón Th1, protector contra el HSV-2. Consecuentemente se obtuvo 100% de protección frente al reto viral en todos los animales que recibieron el ACo1 como adyuvante y un 20% de protección los que recibieron el gD2 solo. **Conclusión:** Se concluye que no hay diferencias entre ACo1-gD y ACo1+gD lo que facilitaría las formulaciones vacunales.

Avances en la caracterización estructural del ACo2 y evaluación de su efecto adyuvante sobre el polisacárido Vi de Salmonella Typhi.

R Acevedo*, C Zayas, A Callicó, E González, M Lastre, ¹VA Ferro, J L Pérez, O Pérez. Instituto Finlay;

¹Universidad de Strathclyde, Escocia, RU. *racevedo@finlay.edu.cu

Introducción. Las enfermedades causadas por *V. cholerae* y *S. Typhi* continúan cobrando gran cantidad de vidas a nivel mundial, por esta razón resulta importante el desarrollo de plataformas adyuvantes que permitan la obtención de vacunas múltiples y efectivas por vía mucosal contra patógenos entéricos. El adyuvante Finlay Cocleato 2 (ACo2) es una estructura microtubular derivada del proteoliposoma de *Vibrio cholerae* O1 (AFPL2) y su transformación incrementa la respuesta inmune mucosal inducida contra los antígenos presentes en el AFPL2 (R. Acevedo y cols Methods 49:309–315, 2009). Sin embargo, la caracterización estructural del ACo2 solo ha sido posible en el rango de la microscopía visible. **Objetivos.** Evaluar la estructura supramolecular del ACo2 y su capacidad adyuvante sobre un antígeno heterólogo, el polisacárido Vi (Poli Vi) de *S. Typhi*. **Resultados.** A través de microscopía de fluorescencia y microscopía electrónica de barrido, transmisión y fractura-congelación se demostró que el ACo2 es una estructura multilaminar y con un patrón de curvatura en espiral, característico de estructuras cocleares. Además, se encontró que la respuesta inmune mucosal (IgA saliva=1,508±0,118; IgA heces=1,062 ± 0,104) y sistémica (IgG=0,61±0,03) inducida por la formulación de Poli Vi adyuvado con ACo2 es mayor ($p<0,01$) que cuando el Poli V1, se administra solo por vía nasal. **Conclusiones.** Se demuestra que el ACo2 es una estructura coclear y su efecto adyuvante puede extenderse a antígenos no relacionados con el AFPL2, como el Poli Vi, por lo que pudiera servir como adyuvantes para vacunas contra patógenos entéricos.

Capacidad inmunopotenciadora de nuevos adyuvantes vacunales evidenciada en el modelo experimental de la reacción Graft vs. Host en ratones híbridos F1 (CBA/JxC57BL/6).

G Sierra*, B Tamargo¹. Instituto Finlay; ¹IFAL.

*gsierra@finlay.edu.cu

Introducción. Mediante la colaboración Finlay-IFAL, se han desarrollado diferentes variantes de adyuvantes vacunales novedosos para ser administrados por diferentes vías como parte de nuevas vacunas, así como sustancias reguladoras o supresoras de dicha actividad con fines inmunoterapéuticos. **Objetivos.** Evaluar el efecto de la aplicación de esas formulaciones a dosis y esquemas comparables con adyuvantes y sustancias de referencia sobre la intensidad de la

reacción del Injerto contra el Huésped (GvHR) e introducir un posible nuevo sistema de cuantificación de la capacidad adyuvante *in vivo*. **Resultados.** La inducción con inóculos de 3 y 10 x 10⁶ células de bazo de la GvHR se comportó según nuestra experiencia previa con Índices de Bazo: 1,5080 y 1,7155 respectivamente. El tratamiento adyuvante elevó estos índices a 1,6314 y a 2,2172 respectivamente. El tratamiento regulador-supresor en cambio redujo la reacción 1,1209 y 1,200, respectivamente. Todos los resultados tuvieron significación estadística y fueron evidenciadas, además, zonas de dependencia de la dosis y zonas de saturación. **Conclusiones.** El modelo de GvHR muestra aplicabilidad en la cuantificación de la capacidad adyuvante *in vivo*, así como las potencialidades inmunoterapéuticas y vacunales de las sustancias experimentales en fase de desarrollo.

Evaluación inmunotoxicológica de nuevas formulaciones adyuvantes nanoparticulados sin Al(OH)₃ ensayadas como candidatos vacunales contra *Neisseria meningitidis*. B Tamargo*, C Fleitas, J F Infante¹, Y Marquéz, W Ramírez², V Pérez¹, D Torralba², L García², V Bourg², A Labrada² y G Sierra¹. IFAL; ¹Instituto Finlay; ²BIOCEN. gsierra@finlay.edu.cu

Introducción. Los estudios inmunotoxicológicos permiten evaluar los efectos adversos de los productos farmacéuticos y otros sobre el sistema inmune. Los adyuvantes, en particular los nano particulados, son potentes inmunoestimuladores, por ello debe considerarse el riesgo de respuestas inflamatorias sistémicas así como daños locales. **Objetivos.** Evaluar los efectos tóxicos e inmunotóxicos de nuevas formulaciones vacunales anti meningocócicas sin Al(OH)₃, basadas en proteoliposomas y cocleatos, conteniendo inmunomoduladores, de estructura molecular definida. **Resultados.** Se comprobó mediante MEB y MET, la formación liposomas y cocleatos, de dimensiones nanométricas. Ninguna de las formulaciones ensayadas, administradas por vía intramuscular e intranasal, provocaron efectos tóxicos generales referidos a, ganancia en masa corporal, la no aparición de signos clínicos adversos y no resultaron localmente reactogénicas, al compararlas con VamengocBC®, donde se observaron granulomas provocados por el Al(OH)₃ uno de los adyuvantes de esta vacuna. Los valores de peso relativo de bazo se encontraron dentro del rango normal. En los órganos linfoides se encontraron, solo los hallazgos provocados por los mecanismos inmunológicos activados por el tipo de preparación ensayada. La reacción HSR provocada por las nuevas formulaciones, fue similar a VA-MENGOC-BC® y a las VME, estimulando la respuesta inmune celular (Th1) y la inducción de memoria inmunológica. Los por cientos relativos de linfocitos TCD4⁺ se relacionan con la respuesta inmune esperada en cada una de las vías, estando dentro de límites normales. **Conclusiones.** Las nuevas formulaciones resultaron no tóxicas de manera general y en particular no inmunotóxicas, en las condiciones experimentales establecidas para este estudio.

Caracterización de dos anticuerpos monoclonales anti-IL2. IB González*, JA Sánchez*, E Montero, J Avellanet, T Carmentate, K León. CIM, Habana, Cuba. *ileanag@cim.sld.cu

Introducción. La interleucina 2 (IL-2) es una proteína inmunomoduladora que juega una función dual en la activación de las células T y en la homeostasis de las células Treg. Está bien descrito que la actividad biológica *in vivo* de la IL-2 puede ser incrementada y dirigida selectivamente, combinando esta citocina con anticuerpos anti IL-2. Este hecho ha sido demostrado específicamente para los inmunocomplejos formados por la IL-2 murina y los anticuerpos monoclonales (AcMs) S4B6 y JES-61A12. **Objetivos.** Caracterizar dos AcMs específicos por la IL-2 humana, CBIL-2,1 y CBIL-2,2. **Resultados.** El mapeo epitópico, usando péptidos sintéticos de la IL-2, mostró que estos AcMs se unen a epítopes lineales diferentes. El AcM CBIL-2,1 reconoce la región de la IL-2 comprendida entre los aminoácidos (aa) 58-75, que constituye un sitio de unión para CD25. Además los aa K64, E67 y E68 de la IL-2 parecen ser determinantes en este reconocimiento. Por otra parte, el AcM CBIL-2,2 reconoce la secuencia aminoacídica localizada entre los residuos 97-114, región que incluye sitios de interacción con las subunidades del receptor CD25 y CD122. Al igual que el AcM S4B6, estos AcMs no inhiben la generación de células NK inducida por la IL-2. Sin embargo, no fueron capaces de inhibir la proliferación de la línea celular CTLL2. Adicionalmente, se estimaron las afinidades aparentes de los AcMs anti IL-2 humana por BIACORE y resultaron ser al menos cinco veces menor que las afinidades de los AcMs anti IL-2 murina: S4B6, JES-5H4 y JES-61A12. Estudios recientes han sugerido que el sitio de unión de cada AcM anti IL-2 determina su actividad *in vivo*. **Conclusión.** Nuestros resultados sugieren además, que los AcMs anti IL-2 útiles en la inmunoterapia, deben ser de alta afinidad.

Muteínas de la IL-2 humana, dos herramientas terapéuticas a partir de una misma molécula. T Carmentate*, S Pérez, M Enamorado, E Moreno, K León. CIM, Ciudad Habana, Cuba. *carmentate@cim.sld.cu

Introducción. En las últimas décadas hemos avanzado considerablemente en la comprensión de la función de las células T reguladoras (Treg). Está bien demostrado que las células Treg tienen un papel central en el control de la tolerancia periférica y que participan además en la supresión y control de diferentes tipos de respuestas inmunes. El

hecho de que la IL-2 es indispensable para el mantenimiento homeostático de dicha población, ha llamado nuevamente la atención sobre esta molécula como posible herramienta terapéutica en cáncer y autoinmunidad. **Objetivos.** Diseñar, obtener y caracterizar a nivel preclínico dos muteínas de la IL-2 con potencial uso terapéutico. **Resultados.** Como resultado del trabajo se diseñaron, usando herramientas bioinformáticas, dos muteínas diferentes a partir de la IL-2 humana. Estas muteínas fueron diseñadas con mutaciones puntuales que afectan diferencialmente la interacción con las diferentes subunidades del receptor de la IL-2 y pueden actuar diferencialmente sobre diferentes poblaciones de linfocitos. Las propiedades de las muteínas fueron evaluadas *in vitro* e *in vivo* y se demostró que se comportan según lo esperado por su diseño. La muteína que no se une a la cadena alfa del receptor funciona como una agonista de la IL-2 y la muteína que no se une a la cadena gamma funciona como una antagonista, preferencial sobre células Treg, ambas muteínas muestran efecto antitumoral. **Conclusión.** Ambas muteínas muestran las propiedades predichas según su diseño bioinformático, ambas tienen efecto antitumoral y pueden considerarse candidatos para la terapia anti-cáncer.

Caracterización fenotípica de células madre autólogas de médula ósea para la terapia celular regenerativa.

C Macías, L del Valle, A Baganet, E Dorticós, J C Jaime, RM Lam, B Socarrás, M Sánchez, V Marsán, L Palma, V Mulens¹, Z Mazorra¹, P Hernández, JM Ballester. IHI; ¹CIM, La Habana, Cuba. *cmacias@hemato.sld.cu

Introducción. Se estudió la expresión de marcadores de la membrana celular en células mononucleares (CMN) de la médula ósea de 14 pacientes a los cuales se les realizó terapia celular autóloga **Objetivo.** Caracterizar la población celular de CMN de la médula ósea y la sangre periférica utilizadas para la terapia regenerativa **Resultados.** Se observó que existe una mayor presencia de células madre adherentes del estroma medular CD45-/CD34- en las CMN obtenidas de la médula ósea y de células CD90+/CD34-/CD45- en CMN procedentes de sangre periférica con elevada expresión de las moléculas CD44 y CD62L. Se encontraron valores más elevados de células CD34+ en las células madre procedentes de sangre periférica con baja expresión de las moléculas CD117- y DR- Se demostró que las CMN procedentes de médula ósea como de sangre periférica muestran una elevada expresión de la molécula de adhesión CD44 (marcador de CMM). **Conclusiones.** Existe una mayor presencia de células madre del estroma medular adherentes en las CMN procedentes de médula ósea y de Células Madre Mesenquimales (CMM) en las células movilizadas hacia la sangre periférica previa estimulación. Los valores más elevados de células CD34+/CD117-/Dr- en las células madre procedentes de sangre periférica pueden corresponder con la célula madre hematopoyética, hemangioblastos y células progenitoras endoteliales movilizadas a la circulación periférica. El porcentaje de expresión elevado de células madre con expresión de la molécula de adhesión CD44 (CMM), sugiere su participación en la migración, asentamiento y diferenciación de estas células y en los mecanismos de acción de regenerativos.

Anticuerpo quimérico que reconoce proteoglicanos sulfatados evita la formación de placas ateroscleróticas en conejos NZB. Y Soto^{1*}, E Acosta², A Pérez¹, L Delgado, MA Becquer², Á Fraga², T Griñán¹, AM Vázquez¹. CIM; ²IFAL, La Habana, Cuba. *yosdel@cim.sld.cu

Introducción. La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria que constituye la primera causa de muerte en países desarrollados y en Cuba. La retención de lipoproteínas aterogénicas en la pared vascular es un evento clave en el desarrollo de la enfermedad y está mediada por proteoglicanos arteriales. Recientemente, en el Centro de Inmunología Molecular (Habana, Cuba) se obtuvo un anticuerpo monoclonal (AcM) quimérico (P3R99) que reconoce moléculas sulfatadas. **Objetivo.** Caracterizar las propiedades de reconocimiento y evaluar la capacidad anti-aterogénica del anticuerpo monoclonal P3R99 en conejos. **Resultados.** Este anticuerpo mostró una alta reactividad a glicosaminoglicanos y proteoglicanos arteriales humanos. Además, inhibió la unión de LDL nativas a condroitín sulfato *in vitro*, así como la retención/oxidación de LDL en la pared arterial de ratas previamente inoculadas con el anticuerpo. Igualmente, el P3R99 reconoció macrófagos murinos y lesiones ateroscleróticas humanas de manera específica. La inmunización de conejos NZB con el AcM P3R99 previno la formación de lesiones ateroscleróticas inducidas con Lipofundín, al tiempo que produjo anticuerpos anti-condroitín sulfato en el suero de dichos animales. Estos resultados sugieren un posible uso del AcM P3R99 en la inmunoterapia activa de la aterosclerosis, pudiendo ser una herramienta efectiva en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. **Conclusión.** El AcM P3R99 reconoce glicosaminoglicanos involucrados en la aterogénesis e inhibe la formación de placas de ateroma en conejos.

Caracterización de un modelo de isquemia cerebral focal inducida por endotelina-1. N Pavón*, W Almaguer, L Lorigados, B Estupiñán, L Blanco, R León, R Delgado, J Marín, A Fernández, L Hidalgo, I Horruitiner, M Ramírez, A García, A Grey. CIREN, La Habana. Cuba. *nancy@neuro.ciren.cu

Introducción. A pesar de los avances recientes en el tratamiento de las enfermedades cerebrovasculares, los accidentes cerebrovasculares continúan siendo la causa principal de discapacidad neurológica. Varios estudios previos han reportado

que el vaso-espasmo inducido en la arteria cerebral media, por la endotelina, produce un defecto sensorimotor en animales de experimentación, que reproduce el impedimento motor asociado al infarto cerebral presente en humanos. **Objetivo:** Desarrollar un modelo de isquemia cerebral focal en ratas mediante la inyección estereotáctica de endotelina en una región cercana a la arteria cerebral media. **Resultados.** Después del evento isquémico inducido por endotelina, todas las pruebas aplicadas mostraron la presencia de un déficit sensorimotor, que se caracterizó por una asimetría en la prueba de estimulación táctil bilateral, una mayor dificultad para retirar los alimentos de la escalera y una disminución de la conducta exploratoria, la distancia recorrida y la velocidad en el campo abierto. Adicionalmente, el estudio histológico reveló la presencia de edema y cambios en la morfología de las neuronas en zona de corteza sensorimotora del hemisferio ipsilateral a la inyección de endotelina. **Conclusión.** De conjunto estos resultados muestran un modelo de isquemia cerebral focal que puede ser utilizado en futuros estudios preclínicos.

Concentraciones del factor neurotrófico derivado del cerebro en tejido cerebral de ratas sanas. T Serrano*, L Lorigados, J Bergado, W Almaguer, E Alberti, I Díaz, JF Montero. CIREN, La Habana, Cuba. teresa.serrano@infomed.sld.cu

Introducción. Dentro de la familia de las neurotrofinas se encuentra el factor de crecimiento derivado del cerebro en rata (FCDC), la misma proteína tiene influencia sobre muchos tipos de neuronas en el SNC, promoviendo su diferenciación, crecimiento y supervivencia. El papel más importantes del FCDC es en la neuroprotección, posiblemente porque protege a las neuronas del daño excitotóxico o metabólico. **Objetivos.** Introducir un método inmunoenzimático que nos permitiera evaluar las modificaciones que aparecen en la expresión de dicho factor en diferentes tejidos cerebrales. **Resultados.** En este estudio demostramos que en las tres áreas cerebrales estudiadas nuestro método fue capaz de detectar de manera sensible y específica el FCDC, donde la cantidad de FCDC en la solución fue proporcional al color generado durante la reacción de óxido-reducción. Las concentraciones detectadas estuvieron en el orden de los picogramos (pg), lo que indica la presencia de pequeñas cantidades de esta proteína en las áreas estudiadas, no obstante el hipocampo mostró una concentración más alta que la detectada en la corteza y el estriado, las que mostraron entre ellas un comportamiento similar. **Conclusiones.** Este estudio tiene especial importancia si tenemos en cuenta que el monitoreo de la expresión de neurotrofinas particularmente del FCDC es una herramienta útil para evaluar las capacidades neurorestaurativas de cualquier tratamiento donde sea utilizado este factor de crecimiento en enfermedades neurodegenerativas.

Regulación diferencial de los autoanticuerpos IgG-NMO, proteína S100Beta y discapacidad en la neuromyelitis óptica. M Robinson*, CA Gonçalves¹, V Portela¹, G Sierra², A Saiz³, J Pierre, L Souza, A Pastoris¹, D Onofre¹. CIREN; ¹Universidad de Porto Alegre, Brasil y Hospital Clínica de Barcelona, España; ²Instituto Finlay, La Habana, Cuba. *maria.robinson@infomed.sld.cu

Introducción. La neuromyelitis óptica (NMO), se caracteriza por mielitis transversa y neuritis óptica severa, además de la positividad del autoanticuerpo IgG-NMO, una inmunoglobulina específica que enlaza la proteína de los canales de agua, Aquaporina-4 y que es considerada en la actualidad un marcador confirmatorio de la NMO, útil para establecer el diagnóstico diferencial con la esclerosis múltiple. Paralelo a la desregulación de citoquina observada en suero de pacientes con NMO, se ha reportado que la IgG-NMO parece conferir un empeoramiento en el curso de la enfermedad en estos pacientes, como resultado de un estudio realizado por Cabrera y cols en la región del Caribe. **Objetivo.** Evaluar la influencia del anticuerpo IgG-NMO sobre los niveles de la proteína S100 beta y parámetros clínicos relacionados con la enfermedad. **Resultados.** Los resultados muestran una disminución no significativa de los niveles séricos de proteína S100 beta en los pacientes con NMO, forma recaída, comparado con los controles, mientras no diferencias fueron observadas respecto al comportamiento de la inmunoreactividad para el autoanticuerpo IgG-NMO. Al mismo tiempo, se observó una correlación significativa entre la positividad para la IgG-NMO y el estado de discapacidad en estos pacientes, esta última evaluada por la escala de discapacidad extendida de Kurtzke). **Conclusiones.** Los resultados corroboran la regulación diferencial de la IgG-NMO sobre los parámetros clínico-biológicos, expresado por el comportamiento diferencial de la expresión de IgG-NMO respecto a los niveles de los marcadores de la glía y la discapacidad clínica observada en pacientes NMO en estado de recaída estudiados.

Obtención de pertactinas ingenierizadas para la sustitución de la pertactina natural en las vacunas contra la tos ferina. D Quintana*, E Coizeau, T Cárdenas, Y Ramos, G Chinea, V Besada, GAM Berbers¹, A Álvarez, G Guillén. CIGB; ¹Laboratory for Vaccine Preventable Diseases, National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven. *diogenes.quintana@cigb.edu.cu

Introducción. La proteína pertactina (PRN) es el segundo antígeno en importancia protectora y el único con actividad opsonofagocítica presente en las vacunas acelulares contra *Bordetella pertussis*. La mayoría de las cepas aisladas son

del tipo pertactina 2 (Prn2) y por el contrario las vacunas se fabrican a partir de cepas del tipo PRN1. Los expertos consideran que la insuficiente duración de la inmunidad generada por las vacunas (4-12 años) junto al surgimiento de nuevas cepas están dentro de las principales causas de la resurgencia de la enfermedad. **Objetivo.** Obtener nuevas moléculas de pertactina potencialmente más efectivas. **Resultados.** Se identificaron secuencias conservadas próximas estructuralmente. Una de ellas contiene el motivo de unión RGD, lo que sugiere que las mismas pueden conformar una región de unión al receptor celular (RURC). Las secuencias involucradas en RURC se mostraron menos expuestas en Prn2 respecto a Prn1, característica que pudiera estar relacionada con una posible ventaja adaptativa de cepas con el tipo Prn2. Se diseñaron seis moléculas novedosas de pertactinas que incluyen las regiones variables R1 de PRN1 y PRN2, la región conservada RURC y otras secuencias de relevancia inmunoprotectora. Las nuevas moléculas se purificaron a niveles de pureza superiores al 80%. Mediante ELISA se comprobó un mayor reconocimiento de las variantes ingenierizadas por sueros humanos y anticuerpos monoclonales conformacionales y lineales con carácter protector. **Conclusión.** Las nuevas moléculas constituyen candidatos para ser evaluados in vivo y seleccionar la de mejores resultados para su inclusión en una formulación acelular contra *B. pertussis*.

Simposio 2. InmunoClínica

Presidentes. Alberto J Dorta, Consuelo Macías y Tania Crombet

CM. Sistema de leyes integradoras en el método clínico-inmunológico como esencia de la organización del trasplante renal. S Arce Bustabad*. Inst. de Nefrología, La Habana, Cuba. *sergio.arce@infomed.sld.cu

Introducción. Para un trasplante renal exitoso se requiere compatibilidad inmune y que pudieran estar basadas en leyes. **Objetivo.** Desarrollar una idea original, concebida en Cuba, sobre la base de las relaciones funcionales entre los factores que componen la prevención, la diálisis, el trasplante renal y la rehabilitación, durante la enfermedad renal crónica. **Resultados.** Se determinan las relaciones funcionales de carácter directa e inversamente proporcional, que expresan la dependencia causal y objetiva entre elementos esenciales, diagnósticos y terapéuticos y diferentes etapas por las que transcurre en la actualidad esta multifacética afección. Por constituir relaciones de causa-efecto entre particularidades que se repiten en condiciones similares, se les llama Leyes y dada su interrelación, constituyen un conjunto o sistema. **Conclusiones.** Se sistematizó, simplificó e integró, de manera científica, el pensamiento y la acción de los profesionales que participan, de alguna manera, en la atención sanitaria de esta enfermedad en un libro.

Supervivencia a corto plazo del injerto renal del donante vivo relacionado y la compatibilidad HLA. Y Trujillo*, A Brito, N Peña, N Díaz, D Barbería, A López, L Gámez, R Viguera¹, S Arce. Instituto de Nefrología; ¹ELAM, La Habana, Cuba. *ytrujillo@infomed.sld.cu

Introducción. La separación de los linfocitos T y B por perlas magnéticas es una técnica altamente efectiva (comparada con la técnica de Fibras de Nylon) para el tipaje serológico y las diferentes modalidades de pruebas cruzadas para el trasplante. **Objetivo.** Las perlas magnéticas están cubiertas de anticuerpos específicos que reconocen marcadores específicos en la superficie de la membrana de los linfocitos T y B. Una vez separados los linfocitos se procede al tipaje HLA y posteriormente a la selección de la pareja donante-receptor. **Resultados.** A todos se les aplicó el protocolo de selección donante vivo relacionado establecido en el departamento de Inmunología del Instituto de Nefrología: cross match y auto reacción de linfocitos a 4 °C, 22 °C, 37 °C, estudio de sensibilización anti HLA y el tipaje HLA clase I y clase II mediante el test de microlinfocitotoxicidad. El cross match final se realizó 48 h antes del trasplante con el donante seleccionado. Utiliza poca cantidad de sangre, rápida, una viabilidad de un 98% de células vivas, sin contaminación y se obtiene la concentración de células requeridas para realizar el tipaje HLA y otras pruebas de histocompatibilidad. **Conclusión.** Con esta técnica logramos introducir el tipaje HLA DR y HLA DQ por serología en la selección de la pareja Donante Vivo Relacionado en el Trasplante Renal.

Prevalencia del virus de la hepatitis C en las unidades de hemodiálisis de la región occidental cubana. RR Santana*, Z Martínez, J Mato, E Carballosa. Hosp. "Hnos. Ameijeiras". La Habana, Cuba. *ritarosa.mtniez@infomed.sld.cu

Introducción. La población de hemodiálisis constituye un grupo de alto riesgo en el caso de la infección por el virus de la hepatitis C y la infección por este virus puede ser causa de pérdida del riñón trasplantado. **Objetivos.** Evaluar la prevalencia de anticuerpos anti-HCV y del ARNviral en pacientes pertenecientes a las unidades de hemodiálisis de la región occidental cubana, así como analizar la concordancia entre las técnicas serológicas y moleculares aplicadas en el diagnóstico del HCV. **Resultados.** Se realizó un análisis multicéntrico de la prevalencia de la infección por el virus de la hepatitis C en las unidades de diálisis de la región occidental aplicando las técnicas serológicas y moleculares, y se

observó si existían diferencias significativas en cuanto a la aplicación de ambas técnicas. El valor promedio de prevalencia de anticuerpos anti-VHC fue 76%, y el calculado para la presencia de ARN viral fue 55%. No se hallaron diferencias significativas (k) en cuanto a la aplicación de ambas técnicas en la mayoría de las unidades de diálisis analizadas. **Conclusiones.** La elevada prevalencia viral se asocia a la transmisión nosocomial provocada por el incumplimiento de las normas de precaución universal establecidas. Se deben combinar las técnicas serológicas y moleculares en el diagnóstico del HCV.

Consentimiento informado en el uso de hemoderivados en Pediatría. C Insua*, A J Jauma, V Marzán¹, M Padilla, C González. Hosp. "William Soler"; ¹IHI, La Habana, Cuba. *cinsua@infomed.sld.cu

Introducción. El consentimiento informado constituye un documento que permite humanizar la relación médico-paciente garantizando el principio de autonomía, el respeto a los derechos individuales y a las instituciones de salud. Algunos hemoderivados se utilizan como inmunoestimulantes y pueden provocar reacciones adversas e incluso transmitir infecciones, como por ejemplo, el virus de la inmunodeficiencia humana. Es conveniente, aún estando aprobado su uso, realizar el consentimiento informado al aplicarlos. **Objetivo.** Determinar el nivel de conocimiento de los profesionales de la salud sobre el consentimiento informado en Pediatría en el uso de hemoderivados. **Resultados.** Después de realizar una encuesta anónima a 60 profesionales de la salud y aplicando la estadística descriptiva, obtuvimos que la mayoría de los encuestados tiene una experiencia profesional superior a 5 años. Al aplicar hemoderivados, el 76,6% explica al paciente o familiar las reacciones adversas y el riesgo de transmitir enfermedades infecciosas, el 73,3% ubica la edad en que pueden ser informados los pacientes pediátricos entre 10 y 16 años; solo el 30% informa y pide consentimiento, el resto solamente informa. El 60% refiere que existen dificultades en la comprensión del documento por parte del paciente. El 100% de los encuestados plantearon que si no existe consentimiento informado por escrito, nunca lo han solicitado los familiares. **Conclusiones.** La mayoría de los encuestados informa a los pacientes o familiares sobre las reacciones adversas y la posibilidad de adquirir infecciones y no saben cómo mejorar la calidad del documento. Los familiares no solicitan el consentimiento en caso de existir.

Determinación de factor reumatoideo en un grupo de adolescentes con diagnóstico de artritis reumatoidea juvenil. C González*, AJ Jauma, C Insua, M Padilla. Hosp. "William Soler", La Habana, Cuba. *carelia.glez@infomed.sld.cu

Introducción. La artritis reumatoide juvenil se caracteriza por presentar inflamación articular generalmente simétrica, deformante con rigidez matinal y en algunos pacientes se acompaña además de manifestaciones en órganos internos como son uveítis y lesiones en piel. No todos los pacientes con esta enfermedad presentan un factor reumatoideo positivo aun cumpliendo con todos los criterios clínicos para su diagnóstico, son estos los llamados O negativos con ausencia de factor reumatoideo. **Objetivos.** Determinar el por ciento de pacientes con factor reumatoideo positivo y factor reumatoideo negativo en pacientes con artritis reumatoide juvenil. **Resultados.** Después de haber estudiado durante un año 20 pacientes con diagnóstico de artritis reumatoide juvenil, obtuvimos que el 80% presentaba factor reumatoideo positivo y un 20% presentaba factor reumatoideo negativo. **Conclusión.** Existe un pequeño % de pacientes que a pesar de presentar criterios clínicos de artritis juvenil tuvieron factor reumatoideo negativo en todas las ocasiones en que se le realizó la determinación, sin que esto negara la existencia de la enfermedad, dado que en estos casos definió la clínica.

La monoterapia con el AcM humanizado Itolizumab (anti-CD6) es segura e induce respuesta clínica en pacientes con artritis reumatoide. P Hernández*, R Torres, C Molinero, D Prada¹, AM López¹, MV Hernández¹, IM Hernández¹, JP Martínez¹, Y Reyes¹, J Milera¹, MR García¹, JA Gómez¹, O Martínez¹, Y Ávila², PC Rodríguez, E Montero. CIM; ¹Servicio Nacional de Reumatología; ²CENCEC, La Habana, Cuba. *patriciahc@cim.sld.cu

Introducción. La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune con elevada morbilidad. Las nuevas terapias biológicas antirreumáticas han tenido resultados alentadores, pero aún no logran un impacto significativo en la cura de la enfermedad. La molécula CD6, que se expresa normalmente en células B y T, está asociada a la respuesta autorreactiva. Estudios con el anticuerpo monoclonal (AcM) humanizado anti-CD6, Itolizumab (T1h), han mostrado efecto clínico en pacientes con psoriasis y AR. Un esquema de 6 semanas de tratamiento con el T1h en pacientes con AR induce respuesta clínica hasta 4 semanas después de terminado el tratamiento. **Objetivo.** Evaluar un esquema de 12 semanas de monoterapia con el T1h en la AR en un ensayo clínico (fase I, abierto, no controlado, multidosis) **Resultados.** Este ensayo incluyó 20 pacientes (5 pacientes/dosis de T1h a 0,1; 0,2; 0,4 y 0,8 mg/kg de peso corporal) con AR activa, que no respondieron a terapias antirreumáticas previas. A la semana de terminado el tratamiento se observó mejoría clínica (ACR = 20%) en más del 50% de los pacientes, que se prolongó hasta 10 semanas después. La dosis de 0,4 mg/kg

resultó la óptima biológica, con un rápido y sostenido índice de respuesta clínica. **Conclusiones.** Durante todo el estudio no se reportaron eventos adversos severos o graves. Las evidencias clínicas del T1h apoyan la relevancia de CD6 como blanco en la terapia de la AR.

Trisomía 18 e inmunodeficiencia combina. Presentación de un caso. V Marsán*, A García¹, N de León Ojeda¹, C Macías, M Sánchez, D Benítez¹, L del Valle Pérez, B Socarrás, A Arce. IHI; ¹Hosp. "William Soler", La Habana, Cuba. *vmarsan@infomed.sld.cu

Introducción. El Síndrome de Edwards o trisomía 18 es un síndrome con múltiples defectos congénitos, consecuencia de un desbalance cromosómico debido a la existencia de tres cromosomas 18. Tiene una incidencia de 1/3000 a 1/8000 recién nacidos vivos, aparece en todas las zonas geográficas, afecta a todas las razas y predomina en el sexo femenino. Alrededor del 95% de los pacientes corresponden a trisomía completa, donde están presentes múltiples malformaciones en órganos y sistemas. El 5% restante, pertenece a trisomía parcial o mosaicismo, con un fenotipo incompleto, por la ausencia de algunas anomalías típicas del síndrome. **Objetivos.** Evaluar el estado inmunológico en una paciente con trisomía 18 parcial tipo mosaico. **Resultados.** Paciente de 9 meses de edad, con infecciones severas recurrentes desde la etapa neonatal, asociadas a anemia, linfopenia, trombocitopenia y neutrofilia. La ecografía mostró una hipoplasia del timo. Se encontraron cifras disminuidas de linfocitos TCD4+, TCD8+ y de células asesinas naturales. La cuantificación de linfocitos B fue normal. Se hallaron concentraciones normales de inmunoglobulinas séricas IgM e IgG y disminuidas de IgA. Se halló una disminución de la actividad hemolítica total de la vía clásica del complemento. No se encontraron alteraciones en la función opsonofagocítica. **Conclusiones:** Se diagnosticó una inmunodeficiencia combinada asociada a un defecto genético, lo que demuestra la heterogeneidad de la expresión clínica de la trisomía 18 y la relación entre el defecto cromosómico y las alteraciones del sistema inmune desde el periodo intrauterino.

Uso de Biomodulina T en el Síndrome de DiGeorge. Presentación de un caso. AJ Jauma*, C Insua, C Macías¹, M Padilla, C González. Hosp. "William Soler"; ¹IHI, La Habana, Cuba. *ariel.jauma@infomed.sld.cu

Introducción. El síndrome de DiGeorge es una inmunodeficiencia celular primaria acompañada de hipoparatiroidismo. Existe una aplasia o hipoplasia congénita del timo, linfopenia, ausente la función de células T en sangre periférica y valores variables de cuantificación y función de los anticuerpos. En algunos casos, se presenta acompañado de cardiopatías congénitas y dismorfia facial. Se produce como resultado de interferencia del desarrollo embriológico normal aproximadamente a las 12 semanas de gestación. Se utiliza el trasplante de timo fetal para tratar esta enfermedad en algunos países, no estando disponible este método en nuestro país. **Objetivo.** Describir la evolución del tamaño del timo en una paciente portadora de esta enfermedad, después de usar la Biomodulina T. **Resultados.** Se inoculó a la paciente un bulbo intramuscular semanal de Biomodulina T desde los dos meses y hasta un año y dos meses de edad. Se realizaron mediciones trimestrales por ultrasonido del área del timo durante el año que duró el tratamiento. Se constató un aumento del tamaño del timo hasta los parámetros considerados como normales (1000-1400 mm²). Con la aplicación de este medicamento se evitó que viajara hacia otro país a realizarse el trasplante de timo fetal. Después de estar hospitalizada en terapia intensiva polivalente durante varios meses, se logró su supervivencia y un aumento significativo de su calidad de vida, al punto de que hoy se encuentra libre de síntomas en su domicilio. **Conclusión.** La Biomodulina T es un inmunoestimulante de producción nacional que resultó ser efectivo en el tratamiento de esta paciente con síndrome de DiGeorge.

Déficit inmunológico en niños con retardo del desarrollo psicomotor por infección congénita por citomegalovirus. E Noris*, MT Interían, M González. LABCEL, La Habana, Cuba. *anoris@infomed.sld.cu

Introducción. EL citomegalovirus (CMV) es la causa más frecuente de infección congénita provocando un gran espectro de manifestaciones clínicas, incluyen secuelas neurológicas que puede evidenciarse incluso hasta varios años después del nacimiento. Sin embargo, los efectos de la prolongada infección viral sobre el sistema inmune de estos pacientes ha sido poco estudiada. **Objetivo.** Determinar las deficiencias inmunes más frecuentes asociadas a la infección congénita por CMV. **Resultados.** Las principales inmunodeficiencias observadas en los pacientes estudiados fueron déficit de IgG en un 5% y de IgA en 38%, hipoplasia tímica en un 19% y déficit de la respuesta inmune celular en el 95%. El síndrome febril sin focalización, seguido por las infecciones respiratorias y las enfermedades diarreicas agudas fueron la sintomatología más frecuente. La asociación entre la inmunodeficiencia celular y la infección congénita fue estadísticamente significativa. **Conclusiones.** En estos pacientes merece una atención especial el diagnóstico de inmunodeficiencia con vista a instaurar una terapéutica adecuada que debe contribuir a mejorar su pronóstico o calidad de vida.

Determinación de marcadores séricos en pacientes con ataque transitorio de isquemia. I Suárez*, F Purroy¹, J Farré¹, A. González, E León, A Cordero. Instituto de Neurología y Neurocirugía, La Habana, Cuba; ¹Hosp. Univ. Arnau de Vilanova, Lleida, España. *idalmis.suarez@infomed.sld.cu

Introducción. El empleo de biomarcadores sanguíneos como indicadores de inflamación o daño cerebral en el ATI ha sido un aspecto poco estudiado y controversial. **Objetivo.** Evaluar el comportamiento en el tiempo de la determinación sérica de S-100B, NSE y proteína C reactiva (PCR), proBNP, IL-1, IL-6, TNF, en pacientes con ATI. **Resultados.** Se incluyeron 129 pacientes con ATI (75 mujeres y 54 hombres) ingresados en el hospital Arnau de Vilanova de Lleida, España, a los cuales se les realizó determinación sérica de S-100B, NSE, PCR, proBNP, IL-1, IL-6, TNF durante las primeras 24 horas del inicio de los síntomas, a los 7 y a los 90 días del evento. Se observaron diferencias significativas con tendencia a la disminución de las mismas con el tiempo de evolución en las concentraciones de PCR ($p<0,042$), proBNP ($p<0,00000$), IL-1 ($p<0,00000$) e IL-6 ($p<0,012$) y TNF ($p<0,00000$) en los pacientes con ATI, no siendo significativo la disminución de las concentraciones de S-100($p<0,259$) y NSE($p<0,195$). **Conclusión:** La disminución evolutiva de estos marcadores puede sugerir alteraciones relacionadas con reacción inflamatoria en el ATI que tienden a restaurarse con el tiempo.

IL-6 en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal fármaco resistente. Estudio evolutivo. L Lorigados*, L Morales, N Pavón, T Serrano, MA Robinson, I García, B Estupiñán, JE Bender, O Trápaga, M Báez, S Orozco, L Rocha. CIREN, La Habana, Cuba. *lourdesl@neuro.ciren.cu

Introducción. Crecientes evidencias sustentan el papel de determinados factores inmunológicos en la epilepsia, con especial énfasis en la epilepsia del lóbulo temporal refractara a fármacos (ELTRF). **Objetivos.** Evaluar IL-6 en suero de pacientes con ELTRF antes y después del tratamiento quirúrgico y determinar si existe correlación entre un marcador de muerte apoptótico (Anexina V) y los niveles de IL-6. **Resultados.** Se observó una tendencia a la disminución de los valores de IL-6 a partir del primer mes de evolución de la cirugía, llegando este decremento a ser estadísticamente significativo al año y 2 años posterior al tratamiento quirúrgico ($p<0,033$). Se detectó una correlación positiva entre el número de células anexina V+ y la concentración de IL-6 antes de la cirugía ($r=0,78$, $p<0,04$). **Conclusiones.** La detección de concentraciones de IL-6 mayores en la etapa prequirúrgica en comparación con la evaluación al año y los 2 años nos habla a favor de la existencia de un proceso inmunológico en estos pacientes que tiende a desaparecer una vez resecado el tejido dañado. Esto confirma otros resultados de nuestro grupo en los que se evidenció un trastorno inmunológico de tipo celular, así como la muerte neuronal en el tejido neocortical de estos pacientes. La citocina proinflamatoria IL-6 podría estar envuelta no solo en los procesos inflamatorios y de activación inmunológica sino también en la muerte celular observada en el tejido neocortical de estos pacientes.

Sonografía de bazo y timo como elemento evaluador de la respuesta inmune en niños con infecciones recurrentes. H Fundora*, J Rabaza¹, A Rodríguez, M de los Á Hernández¹. INHEM; ¹Hosp. Ángel A Aballí, La Habana, Cuba. *hermes.fundora@infomed.sld.cu

Introducción. El bazo es un órgano linfoide secundario. Dentro de sus funciones encontramos la formación de anticuerpos de clase IgM e IgG, fundamentalmente, y la fagocitosis de bacterias encapsuladas. **Objetivos.** Mensurar las dimensiones del bazo en niños con infecciones recurrentes, con el propósito de describirlas como marcador diagnóstico y explorar la probable relación existente entre las características tímicas y las dimensiones del bazo. **Resultados.** Las áreas tímica y esplénica fueron medidas por ecografía mediastinal y abdominal. La longitud, el índice esplénico y el peso fueron menores en los pacientes con infecciones recurrentes, siendo este hallazgo significativo para el grupo de 12 a 23 meses de edad. El peso y el índice esplénico fueron menores en niños con depleción del área tímica. **Conclusiones.** Todo parece indicar que la evaluación sonográfica del bazo es muy importante en los pacientes comprendidos entre 1 y 2 años de edad y en aquellos que presentan depleción del área tímica, pacientes estos que por encontrarse en edades donde se administran las vacunas programadas en el Esquema Cubano de Inmunización y tener afectado un órgano central de la respuesta inmune podrían presentar una respuesta deficitaria y requerir esquemas especiales.

Eventos clínicos y moleculares asociados al desarrollo de la ancefalomiелitis autoinmune experimental en ratas Lewis N Lagumersindez*, M Cervantes¹, V Falcón¹, EF Acosta, A Llópiz¹, K Macías¹, C Valenzuela¹, E Rodríguez¹, J Marín, G Guillén¹, P López¹, E Pentón¹, G Pentón¹. IFAL; ¹CIGB. *nlagumersindez@ifal.uh.cu

Introducción. El desbalance de la rama efectora y reguladora de la respuesta inmune tiene un papel importante en el mecanismo patogénico de la esclerosis múltiple (EM) y de su modelo animal; la encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE). Por otra parte, se ha descrito que el estrés oxidativo (EO) es otro de los componentes cruciales del daño celular en la patogenia de la EM, capaz de deteriorar irreversiblemente el tejido neuronal y contribuir directamente a la

desmielinización y el daño axonal característicos de la enfermedad. **Objetivos.** Evaluar la modulación de genes relacionados con el balance efector-regulador en un modelo de EAE en ratas Lewis, por RT-PCR semicuantitativa, medición de marcadores de EO y realizar una caracterización histopatológica de las lesiones por microscopía electrónica. **Resultados.** Se observó una modulación positiva de los marcadores de células T reguladoras CD25 y Foxp3 en el pico clínico de la enfermedad evidenciando la importancia de los mecanismos reguladores en la resolución del proceso autoinmune. También encontramos un incremento significativo del daño oxidativo a lípidos en suero y homogenados de cerebro reflejado en marcadores como el malondialdehído y el potencial de peroxidación. **Conclusiones.** La identificación de signos clínicos, citocinas efectoras y reguladoras, marcadores redox asociados al daño a biomoléculas; así como la demostración histológica de desmielinización axonal; permitió una aproximación al mecanismo patogénico del modelo de EAE y los procesos de regulación temporal de la misma, lo cual resulta imprescindible para la búsqueda de nuevos fármacos con potencialidades terapéuticas en la EM.

Anticuerpos antinucleosoma en el lupus eritematoso sistémico. Su relación con los niveles de anti-DNAclgG, C3, C4 y la pérdida renal de proteínas. E Kuina*, M Estévez, D Marrero, G Fernández, A Chico, M González, D Pérez, Y Peña. Hosp. Hnos. Ameijeiras, La Habana, Cuba. *immunologia@hha.sld.cu

Introducción. Aunque la presencia de autoanticuerpos es la característica distintiva del lupus eritematoso sistémico (LES), su relación con la evolución de esta enfermedad aún no ha podido ser definida. **Objetivos.** Examinar las correlaciones entre los autoanticuerpos anti-nucleosoma (anti-NS) y anti-DNA de doble cadena (anti-DNAclgG), niveles séricos de complemento (C) 3, C4 y la proteinuria en pacientes con LES. **Resultados.** En 90 pacientes con LES la prevalencia de los anticuerpos aNS fue superior a la de los anti-DNAclgG (81,1% vs 37,8%, respectivamente, $p<0,000$). Los anticuerpos aNS se encontraron en niveles más elevados que los anti-DNAclgG (medias de sueros positivos: 132,5 u/mL vs. 74,5 u/mL, respectivamente, $p<0,000$). Ambos anticuerpos se correlacionaron significativamente entre sí y de forma inversa con los niveles de C3 y C4. Los anticuerpos anti-NS, a diferencia de los anti-DNAclgG, se correlacionaron con la proteinuria de 24 horas ($r=0,437$, $p=0,001$). **Conclusiones.** Este estudio ha revelado que los anticuerpos anti-NS son un marcador más sensible que los anti-DNAclgG para el LES y lo que es más importante, los anticuerpos anti-NS se asociaron a la pérdida renal de proteínas del LES, lo que puede ser indicativo de su papel patogénico en la nefritis lúpica.

Parámetros inmunológicos y causas de cambios de tratamiento en un grupo de pacientes VIH/sida. D Hernández*, J Pérez. IPK, La Habana, Cuba. *dayme@ipk.sld.cu

Introducción. La infección por VIH es un problema de salud, 40 millones de personas están infectadas en el mundo. Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal en 40 pacientes VIH/sida. **Objetivos.** Caracterizar marcadores de progresión de la enfermedad, factores que influyen en el conteo de las subpoblaciones linfoides, causas de cambio de tratamiento antirretroviral y tipos de reacciones adversas. **Resultados.** Los marcadores inmunológicos de progresión de la enfermedad fueron linfocitos T CD4 con una variación de 20% a 40%. Con disminución de 4% por año, con incrementos logarítmicos de carga viral, aumento de linfocitos T CD8 y NK, luego disminuyen y aumento de células T reguladoras. Con la terapia antirretroviral el CD4 aumento 50 cel/uL semanas después de la supresión viral y continua aumentando 50-100cel/uL por año. Los factores que influyeron en las células T CD4+ fueron variaciones analíticas, estacionarias y diurnas con 62%, enfermedades intercurrentes con 29% y uso de corticoesteroides con 9%. Los esquemas de antirretrovirales fueron: 3TC, d4T e Indinavir (57,5%), 3TC, AZT e Indinavir (22,5%). Las causas de cambio de tratamiento fueron las reacciones adversas (77%) y la mala adherencia al tratamiento (12%). **Conclusiones.** Los marcadores inmunológicos de progresión fueron los linfocitos T CD4, carga viral, linfocitos T CD8, NK y células T reg. Los factores que influyeron en las células T CD4+ fueron variaciones analíticas, estacionarias y diurnas, enfermedades intercurrentes y uso de corticoesteroides. Las causas de cambio de tratamiento fueron reacciones adversas y mala adherencia al tratamiento. Las reacciones adversas fueron vómitos y trastornos digestivos.

Expresión de genes TNF α , IFN γ , TGF β 1, IL-10, IL-1 α , IL-1 β , IL-6 y Foxp3 en pacientes asmáticos. O Orraca*, B Sierra¹, AB Pérez¹, H Torres². CPHEM, Pinar del Río; ¹IPK, La Habana; ²Hogar de Ancianos Carlos Castellanos, Pinar del Río, Cuba. *anadals@princesa.pri.sld.cu

Introducción. Las citoquinas juegan un papel muy importante en los procesos de inflamación de las vías aéreas en enfermedades tan comunes como el asma bronquial. **Objetivo.** Identificar la expresión de genes de citoquinas TNF α , IFN γ , TGF β 1, IL-10, IL-1 α , IL-1 β , IL-6 y Foxp3 en pacientes asmáticos. **Resultados.** Se realizó un estudio observacional analítico. Se obtuvo sangre periférica de 26 individuos (edad de 20 a 60 años) divididos en dos grupos: 6 asmáticos y 20 sin antecedentes de asma. Se extrajo el ARN de las células estimuladas de asmáticos y controles después de la incubación con Medio (Mock) y PHA. Para la cuantificación de la expresión de los genes se empleó la RCP en tiempo

real. La respuesta de los asmáticos fue menor en células estimuladas con PHA para todas las citoquinas estudiadas y con resultado significativos para $TNF\alpha$, $IFN\gamma$, IL-10, Foxp3 y $TGF\beta 1$. Sin embargo, se obtuvieron resultados variables al ser estimuladas las células con Mock. **Conclusiones.** El resultado de la respuesta alérgica mediada por IgE en el asma bronquial es mediado por diversas citoquinas inflamatorias Th2. La IL-1 y el $TNF\alpha$ juegan un papel importante en el inicio de la respuesta alérgica.

Pesquisa sobre seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en donantes de sangre en las provincias de Guantánamo y Santiago de Cuba. R Sánchez*, Y Goya, W Góngora, G Cubeñas¹, B Cuervas², D Cobos, O Pérez. Cibho, Bancos provinciales de ¹Guantánamo y ²Santiago de Cuba; ³Instituto Finlay, La Habana, Cuba. *rolando@cibho.hlg.sld.cu

Introducción. El hombre participa como hospedero intermediario en el ciclo evolutivo del parásito *Toxoplasma gondii* y al menos un tercio de la población mundial ha estado en contacto con el mismo. Su frecuencia varía según las zonas geográficas y los hábitos alimentarios, pudiéndola contraer a través de transfusiones de sangre de donantes infectados. La enfermedad, en individuos inmunocompetentes tiende a ser asintomática o con escasas manifestaciones clínicas y en inmunodeprimidos puede provocarles la muerte cuando el nivel de células CD4+ es menor que 100. Durante el embarazo ocasiona aborto o daños irreversibles en el sistema nervioso central del feto que pueden ser fatales. Cuba no es una excepción y se considera un problema de salud. Los riesgos de contaminación con *Toxoplasma gondii* están incrementados por la incidencia de este parásito en donantes de sangre y la tolerancia del mismo a los procesos de preparación y almacenamiento de la sangre, resultando peligroso para los grupos de riesgos. Esta enfermedad no es de declaración obligatoria en nuestro país. **Objetivos.** Conocer el comportamiento seroepidemiológico de esta parasitosis en las provincias orientales del sur de Cuba. **Resultados.** Se realiza una pesquisa en 1.438 donantes de sangre por la técnica de inmunofluorescencia Indirecta (IFI), resultando positivos el 37,3%. Observamos que en la provincia de Guantánamo el 70% de sus municipios tienen una seropositividad superior al 42%. **Conclusiones.** Los datos seroepidemiológicos constatados de la Toxoplasmosis en este estudio alertan sobre la necesidad de proponer acciones de control en el uso de hemoderivados en individuos inmunocomprometidos y mujeres embarazadas de donantes seropositivos.

Simposio 3. Productos

Presidentes. Alexis Labrada, Antonio Miranda y Amparo Macías

CM. Vacuna Racotumomab. Una novedosa terapia biológica para el tratamiento de los pacientes con cáncer de pulmón de células pequeñas (CPCNP) avanzado. A Macías*, S Alfonso¹, E Santiesteban², D Toledo³, C Viada³, I Mendoza³, P Guerra³, AM Vázquez, T Crombet, R Pérez, A Lage. CIM, ¹Hospital Universitario Celestino Hernández Robau, Las Villas; ²Hospital José Ramón Tabranes, Matanzas; ³Centro Coordinador de Ensayos Clínicos. La Habana, Cuba. *amparo@cim.sld.cu

Introducción. Por su incidencia y mortalidad, el cáncer de pulmón avanzado todavía constituye una necesidad médica sin resolver. La vacuna terapéutica Racotumomab es un anticuerpo monoclonal anti-idiotipo que mimifica los gangliosidos N-glicolilados presentes en la célula tumoral pero no en la célula normal. En Cuba estamos conduciendo un ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, controlado, a doble ciegas **Objetivo.** Evaluar la eficacia clínica del Racotumomab en pacientes de CPCNP avanzados en términos de supervivencia. El ensayo consta de 176 pacientes estadios IIIB/IV de CPCNP que han alcanzado respuesta a la primera línea de tratamiento onco-específico estándar y tienen un estado general clasificado por el ECOG de (PS) <2. La vacunación no se interrumpe con la progresión de la enfermedad y se mantiene hasta que el estado general del paciente lo permita. Las primeras cinco dosis son administradas cada 15 días y las siguientes cada 28 días. Un análisis intermedio previsto en 132 pacientes con un seguimiento de al menos 8 meses, demostró que en intención a tratar la mediana de supervivencia para el Placebo fue de 6,17 meses y la tasa de supervivencia (24 meses) de 7,7% y para la Vacuna la mediana de supervivencia fue de 8,93 meses y la tasa de supervivencia (24 meses) de 20%. Esta diferencia es estadísticamente significativa (log Rank test $p=0,036$). Los eventos adversos reportados fueron locales, grados I-II de acuerdo a la NCI-CTC. **Conclusión.** El Racotumomab debido a su perfil de seguridad y eficacia clínica constituye otra opción terapéutica para los pacientes de CPCNP avanzados.

CM. Evaluación de la supervivencia de pacientes con tumores avanzados de pulmón de células no pequeñas tratados con el anticuerpo monoclonal anti-EGFR nimotuzumab, la vacuna CimaVax EGF o la combinación de ambos. T Crombet¹, E Neninger², P Abreu³, S Acosta⁴, L Bello⁵, N Mederos⁶, M Catalá⁷, C Viada¹, A Fernández¹, M Troche¹, B Wilkinson¹, Y Durán¹ y L Martínez¹. ¹CIM; ²Hospital Hermanos Ameijeiras; ³Hospital VI. Lenin; ⁴Hospital Saturnino Lora; ⁵Hospital Antonio Luaces; ⁶INOR; ⁷CIMEQ. taniac@cim.sld.cu

Introducción. El cáncer del pulmón es el primero en incidencia y mortalidad por tumores malignos. El receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) está sobreexpresado en el 70% de los tumores pulmonares de células no pequeñas y tiene un rol demostrado en la progresión maligna. Se realizó un Programa de Acceso Expandido para pacientes portadores de cáncer de pulmón avanzado, sin alternativa terapéutica. Los pacientes recibieron el anticuerpo monoclonal anti-EGFR nimotuzumab, la vacuna terapéutica CimaVax EGF (inductora de anticuerpos anti-EGF) o la combinación de ambos. **Objetivos.** Evaluar la supervivencia de los pacientes con cáncer de pulmón tratados con el monoclonal, la vacuna o la combinación, así como su seguridad. **Resultados.** Se incluyeron más de 500 pacientes portadores de cáncer avanzado de pulmón. El tratamiento con nimotuzumab, CimaVax EGF o la combinación fue muy bien tolerado. Las reacciones adversas más frecuentes fueron leves o moderadas y consistieron en cefalea, escalofríos, temblores y fiebre. La mediana de supervivencia fue de 8 meses para los 3 grupos de tratamiento, no detectándose diferencias entre ellos. La data de supervivencia fue significativamente superior a la alcanzada por un grupo control no concurrente que incluía a la misma población. Esta supervivencia es equivalente a la obtenida con el uso de quimioterapia de 2da línea, con una alta toxicidad. **Conclusiones.** La inmunoterapia (pasiva, activa o la combinación de ambas) fue muy bien tolerada e incrementó la supervivencia de estos pacientes. No se constató efecto aditivo en el uso de la combinación de monoclonal y vacuna.

Nimotuzumab en el tratamiento de cáncer de esófago inoperable en combinación con quimioradioterapia.

M Ramos*. CIM, La Habana, Cuba. *mayra@cim.sld.cu

Introducción. Nimotuzumab es un anticuerpo monoclonal (AcM) humanizado IgG1 que reconoce un epítipo ubicado en el dominio extracelular del receptor del factor de crecimiento epidérmico humano. Los tumores de esófago constituyen una de las primeras causas de muerte por cáncer con más de un 90% de expresión del EGFR por lo que podría ser una nueva indicación terapéutica. **Objetivo.** Evaluar la seguridad y respuesta objetiva del Nimotuzumab con quimioradioterapia (QRT). **Resultados.** Ensayo Clínico Fase II, aleatorizado, multicéntrico, abierto, prospectivo. Se aleatorizaron 68 pacientes con tumores inoperables del tercio medio y superior del esófago, con diagnóstico de tumores de origen epitelial y con expectativa de vida de más de seis meses. Se evaluó la expresión del EGFR y del KRAS por FISH en el 20% de los pacientes tratados. La administración de Nimotuzumab en concomitancia con la quimioradioterapia fue segura, no presentándose eventos adversos inesperados y los más frecuentes fueron ligeros y moderados. Se encontró diferencia significativa en la ORR entre el grupo tratado con Nimotuzumab en combinación con QRT (47,8% versus 15,4% respectivamente, $p=0,014$). El DCR tuvo una diferencia significativa de 60,9% vs 26,9% a favor del grupo tratado con el producto en investigación más QRT ($p=0,017$). **Conclusiones.** La asociación de la QRT con Nimotuzumab ofrece beneficios significativos en la ORR y DCR en pacientes con tumores de esófago inoperables del tercio medio y superior en etapas III y IV de la enfermedad, se obtuvo Registro de Medicamento en Cuba para esta indicación.

Tolerabilidad de la inmunoterapia sublingual con las vacunas terapéuticas VALERGEN utilizando diferentes esquemas de dosis en niños.

RL Castro*, M Álvarez, M Ronquillo¹, I E Domínguez¹, J Rodríguez¹, M González², M Mateo, D Torralba, A Labrada, Y Oliva. BIOCEN, Bejucal; ¹Hosp. Calixto García; ³Policlínico Docente Pedro Fonseca, La Habana, Cuba. *rcaastro@biocen.cu

Introducción. La inmunoterapia alérgeno específica con alérgenos de ácaros, ha demostrado su eficacia como herramienta terapéutica, tanto en la rinitis como en el asma. Sin embargo, la inmunoterapia inyectable por vía subcutánea (ITSC) conlleva un alto riesgo de eventos adversos sistémicos, por lo que la vía sublingual (ITSL) esta siendo utilizada con mayor frecuencia. La eficacia de la ITSL en el asma ha sido evidenciada en diferentes metaanálisis publicados. En Cuba, el efecto terapéutico y seguridad de las vacunas de ácaros (*Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), *D.siboney* (Ds) y *Blomia tropicalis* (Bt), ha sido demostrado en adultos pero no en niños. **Objetivo.** Demostrar la tolerabilidad de la ITSL con las vacunas terapéuticas VALERGEN (BIOCEN, Cuba) utilizando diferentes esquemas de tratamiento en niños. Se seleccionaron 20 niños (2 a 15 años) con asma persistente ligera o moderada para cada esquema. **Resultados.** Se aplicaron tres esquemas de dosis: esquema 1: hasta 3 gotas; esquema 2: hasta 5 gotas y el esquema 3: hasta 10 gotas sublinguales en la fase de incremento. En la fase de mantenimiento en el esquema 1 se mantuvo la misma dosis diaria; mientras en el 2 y 3 se administraron las dosis bisemanalmente (lunes y viernes). Todos los pacientes toleraron el esquema de dosis empleado. Solamente, dos pacientes con el esquema 3 presentaron reacción local leve sin tener que variar el esquema. **Conclusión.** Este estudio indica que los niños toleran los tres esquemas de tratamiento de forma similar.

La inmunoterapia con extractos alergénicos de ácaros Valergen en el asma bronquial. TC Pérez*, IM Morera, Á González. Hosp. "Camilo Cienfuegos", Sancti Spíritus. *taniacaridad.ssp@infomed.sld.cu

Introducción. La inmunoterapia con alérgenos es el único tratamiento que puede cambiar el curso natural de la enfermedad alérgica. Se realizó una investigación prospectiva longitudinal en pacientes adultos asmáticos, sensibilizados a ácaros de las especies *Dermatophagoides pteronyssinus* (DP), *Dermatophagoides siboney* (DS) o *Blomia tropicalis* (BT) atendidos en consulta de alergología en el hospital provincial "Camilo Cienfuegos" de Sancti Spíritus del 1 de enero al 31 de diciembre del 2009, con el **objetivo** de evaluar la efectividad y seguridad de la inmunoterapia con extractos alergénicos Valergen® en los mismos. **Métodos.** Las vacunas se suministraron por vía subcutánea o sublingual, evaluándose al año del tratamiento. La población objeto de estudio estuvo integrada por 60 pacientes; el 64,0% fueron mujeres, predominando edades entre 16 y 20 años, aceptando la vía sublingual en su mayoría. **Resultados.** La rinitis alérgica se manifestó en un 64%, el 78% de los pacientes toleraron las dosis pautadas; el 88% se evaluó de mejor, pues disminuyeron los síntomas en más del 60% de la puntuación inicial y el uso de medicación concomitante en la mitad de los casos. Se presentaron eventos adversos en menos de 2% de las dosis administradas, clasificados como leves o moderados y en relación de causalidad remota y posible. **Conclusiones.** La inmunoterapia específica con extractos alergénicos de ácaros Valergen ha sido bien tolerada por los pacientes sensibilizados, mostrando ser efectiva y segura en el tratamiento del asma bronquial.

Seguridad de la inmunoterapia sublingual con vacunas estandarizadas de ácaros domésticos. M Álvarez*, RL Castro¹, DR Gutiérrez, I Enríquez, A Labrada¹, M Ronquillo, J Rodríguez, IM García. Hosp. "Calixto García"; ¹BIOCEN, La Habana, Cuba. *mirtaac@infomed.sld.cu

Introducción. La inmunoterapia alérgeno-específica (IT), consisten en la administración de dosis progresivamente crecientes del alérgeno al cual el individuo está sensibilizado, con el objetivo de alcanzar tolerancia al mismo y disminuir la sintomatología clínica. La vía sublingual (ITSL), en particular, empleando vacunas estandarizadas y registradas, gana actualmente en difusión en el mundo y en Cuba, atendiendo a una mayor seguridad. **Objetivo.** Determinar la seguridad de las vacunas sublinguales de ácaros domésticos VALERGEN y los eventos adversos con su uso, en pacientes atendidos en el Departamento de Alergología del hospital universitario "Calixto García", así como la frecuencia de prescripción de vacunas alérgicas en el período enero-septiembre 2010. **Resultados.** Estudio descriptivo, transversal, que incluyó 130 pacientes con tratamiento de ITSL con VALERGEN-DP, DS y BT (BIOCEN, Cuba); edad media de 19,6 años (rango 1-75), que asistieron al cambio de vacuna en nuestro servicio. El 40,7% tenía 17 años o menos. El tipo de vacuna más empleada resultó ser la multialérgica (63,8%). El ácaro más empleado fue el *Dermatophagoides pteronyssinus* (DP) seguido de *Blomia tropicalis* (BT). El 71,55% de las vacunas se encontraban en fase de mantenimiento. Se presentaron cuatro eventos adversos (3,1%), todos locales, leves, que no requirieron tratamiento ni cambio de pauta de vacunación. **Conclusión.** Las vacunas sublinguales VALERGEN son seguras y bien toleradas en los pacientes alérgicos.

Estudio de estabilidad en anaquel de la nueva vacuna antialérgica adyuvada y adsorbida del ácaro del polvo *Dermatophagoides siboney*. A Más*, W Ramírez, A Labrada, Y Oliva, M Mateo, V Bourg, D Torralba, L Huergo, T Morales, J Llama, M Lastre¹, O Pérez¹. BIOCEN, Bejucal; ¹Instituto Finlay, La Habana, Cuba. *arelis@biocen.cu

Introducción. La evaluación de la estabilidad de las vacunas como otros productos farmacéuticos es un requisito para avanzar hacia los ensayos clínicos. **Objetivo** Demostrar la estabilidad de una nueva vacuna terapéutica antialérgica basada en *Dermatophagoides siboney*, adyuvada con vesículas de membrana externa de *N. meningitidis*, adsorbida en hidróxido de aluminio. Tres lotes a escala piloto fueron almacenados a 4 °C y muestreados a los 0, 3, 6, 9, 12, 18 y 24 meses. **Resultados.** La posible desadsorción del alérgeno del gel de hidróxido de aluminio fue monitoreada en el sobrenadante por ELISA de inhibición-IgE, contenido de Der s 1 (ELISA de AcM) y de proteínas totales (Lowry). La preservación de la integridad del antígeno se evaluó por SDS-PAGE y Western Blotting después de inducir la desadsorción. Además, se analizó la estabilidad del pH y la esterilidad. Los límites establecidos fueron los empleados para la liberación del producto. La inmunogenicidad alérgeno específica en ratones Balb/c fue determinada al comienzo y al final del estudio. Después de 24 meses no se observaron desviaciones significativas de las especificaciones de calidad para ninguno de los parámetros. Aunque se notó un ligero incremento estadísticamente no significativo ($p < 0,05$) en la actividad alérgica y el contenido de Der s 1 en el sobrenadante. La inmunogenicidad mostró inducción de anticuerpos alérgeno-específicos IgG, IgG1 e IgG2a (este dependió del efecto adyuvante de las vesículas), similar a los resultados preliminares. **Conclusión.** Este estudio demostró la estabilidad de la vacuna durante 24 meses, permitiendo establecer este tiempo como período de validez.

Desarrollo del proceso de obtención de la fracción proteica alergénica purificada como ingrediente farmacéutico activo en vacuna adyuvada para terapia de la alergia. D Martínez*, A Labrada, A Más, D Torralba. BIOCEN, Bejucal, Cuba. *deibbys.martinez@biocen.cu

Introducción. Las vacunas alergénicas de nueva generación destinadas a la inmunoterapia de la alergia están basadas en alérgenos naturales purificados o recombinantes y adyuvantes. En las mismas, las proteínas alergénicas se consideran el ingrediente activo (IFA) debido a que inducen una respuesta inmune específica. **Objetivo.** Evaluar la eficiencia y consistencia del proceso de purificación de alérgenos de *Dermatophagoides siboney* como IFA de una vacuna terapéutica. **Resultados.** La purificación se inició a partir de extracto alergénico liofilizado de *D. siboney* (VALERGEN-DS, BIOCEN) comprendiendo precipitación salina y cromatografía de exclusión molecular en SUPERDEX-200. El contenido del alérgeno mayor Der s1 fue determinado por ELISA y la pureza por SDS-PAGE. La composición alergénica fue evaluada mediante Western Blotting IgE con sueros de pacientes alérgicos. El proceso de purificación mostró resultados consistentes después de 14 lotes consecutivos. La concentración promedio de Der s1 fue de 149,5 µg/mL, CV: 22,9%. La pureza de los componentes Der s1 (25 kDa) y Der s2 (15 kDa) fue superior al 60% para todos los lotes con 1% de probabilidad de fallo. El rendimiento de Der s1 por lote fue 4.3±0,6 mg. Estos valores son considerados satisfactorios teniendo en cuenta la alta variabilidad de los métodos analíticos (la cual se estima mucho mayor que la variabilidad intrínseca del proceso). **Conclusión.** Se demostró la consistencia en los principales parámetros de calidad para el ingrediente activo de una vacuna de nueva generación, lo cual es muy importante para el desarrollo clínico del producto.

Método para la determinación de la potencia relativa de nuevos lotes de referencia de vacunas alergénicas, mediante Prick-Test en paralelo. A Labrada*, Y Oliva, M Mateo, A Más, R L Castro, B Navarro. BIOCEN, Bejucal, Cuba. *labrada@biocen.cu

Introducción. Las Referencias Internas (RI) de las vacunas de alérgenos deben ser sometidas a estandarización biológica, a partir de su reactividad cutánea *in vivo*. Las Unidades Biológicas (UB) se definen en base a la reactividad a la histamina 10 mg/mL; sin embargo, para el establecimiento de nuevos lotes de RI, ambos lotes, el nuevo y el viejo deben ser evaluados en paralelo. **Objetivo.** Establecer una prueba cutánea con ese propósito. **Resultados.** Se emplearon extractos alergénicos liofilizados de *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), *D. siboney* (Ds) y *Blomia tropicalis* (Bt) (BIOCEN, Cuba). El Prick-Test se realizó con 3 concentraciones nominales de cada lote: 200; 20 y 2 KUB/mL. Se midió el diámetro y el área del habón y para cada lote se construyó una recta de dosis-respuesta. La prueba era válida si $d=3$ mm a 20 KUB/mL y si cumplía con las pruebas de linealidad ($r>0,90$) y paralelismo ($p<0,05$). La Potencia Relativa (PR) se calculó empleando el método estadístico de las rectas paralelas. Se seleccionaron los 10 primeros pacientes consecutivos válidos. PR fue calculado como un promedio ponderado, de acuerdo al método de la varianza inversa. Los valores de PR fueron: para 0,82 (IC: 0,39-1,72); Ds: 1,29 (0,83-2,02); Bt: 1,29 (0,98-1,68). Los mismos concordaron con los resultados de potencia absoluta, así como con los valores *in vitro*, medidos por ELISA IgE. La precisión del método fue $\sigma[\log RP]=0,116$; mejor que para la potencia absoluta y similar al método *in vitro*. **Conclusión.** El método es apropiado para asignar valores de potencia a los nuevos lotes de referencia.

Influencia de la nueva vacuna antialérgica adyuvada con proteoliposoma sobre la respuesta preexistente contra *Neisseria meningitidis*. W Ramírez*, V Bourg, A Más, D Torralba, L Huerco, M Lastre¹, O Pérez¹. BIOCEN, Bejucal; ¹Instituto Finlay, La Habana Cuba. *wendy@biocen.cu

Introducción. Una nueva vacuna terapéutica antialérgica en desarrollo se basa en alérgenos purificados del ácaro *Dermatophagoides siboney* y emplea como adyuvante proteoliposoma (PL) de *N. meningitidis*. El mayor beneficio potencial de esta vacuna sería el aumento de la eficacia de la inmunoterapia alérgeno-específica reduciendo el número de inyecciones requeridas en el tratamiento. El PL es el componente fundamental de la vacuna antimeningocócica (VA-MENGOC-BC[®], Instituto Finlay, Habana). **Objetivo.** Evaluar la influencia de la vacuna antialérgica sobre una respuesta preexistente contra *N. meningitidis*. **Métodos.** Se determinó la respuesta de anticuerpos IgG y subclases IgG1 e IgG2a específicos al PL, antes y después de la administración de tres dosis de la vacuna antialérgica (2 µg Der s 1 por dosis), en ratones Balb/c vacunados previamente con dos dosis de VA-MENGOC-BC[®]. También se evaluó la respuesta IgG alérgeno-específica y subclases IgG1 e IgG2a. **Resultados.** La administración de la vacuna antialérgica en estos ratones mostró un incremento dosis-dependiente de la respuesta de anticuerpos IgG, IgG1 e IgG2a específicos al PL. Inesperadamente, la inmunización previa con VA-MENGOC-BC[®] incrementó significativamente la respuesta de anticuerpos IgG, IgG1 e IgG2a alérgeno-específicos inducidos por la administración posterior de la vacuna antialérgica (ANOVA, $p<0,05$). Estos resultados confirman que la mayor respuesta de anticuerpos IgG2a e IgG1 de la vacuna antialérgica se obtiene luego de

la tercera dosis. **Conclusión.** Los resultados sustentan la seguridad de la nueva vacuna antialérgica con respecto a su no influencia negativa en la respuesta antimeningocócica preexistente.

Respuesta inmune humoral y beneficio clínico de la inmunización con CIMAvax EGF en múltiples sitios anatómicos y con altas dosis. PC Rodríguez*, E Neninger¹, B García, X Popa, C Viada, E Montero, A Lage, T Crombet. CIM;

¹Hosp. Hnos. Ameijeiras, La Habana, Cuba. *camilo@cim.sld.cu

Introducción. Estudios preclínicos previos aportaron evidencias para optimizar el esquema terapéutico de la vacuna CIMAvax EGF. **Objetivos.** Evaluar en pacientes con cáncer del pulmón de células no pequeñas (estadios IIIB/IV) un nuevo esquema terapéutico con la vacuna CIMAvax EGF. **Resultados.** Los 40 pacientes vacunados de un ensayo clínico fase II concluido, que recibieron un esquema de inmunización en 1 sitio anatómico (0,6 mg de dosis total), son comparados con los primeros 84 pacientes de un estudio fase III en curso, inmunizados en 4 sitios anatómicos (2 deltoides y 2 glúteos), para una dosis total de 2,4 mg (0,6 mg por sitio). Ambos ensayos clínicos resultan comparables en cuanto a las características basales y demográficas de los pacientes. Todos los pacientes recibieron una dosis baja de ciclofosfamida 3 días previos a la primera inmunización. Con ambos esquemas terapéuticos se indujo la respuesta humoral con 4 inmunizaciones quincenales y se sostuvo con re-inmunizaciones mensuales. La inmunización en múltiples sitios y altas dosis induce un 33% superior de pacientes clasificados como buenos respondedores, de ellos el 29% de pacientes clasificados como muy buenos respondedores, con solo un 14% de pacientes clasificados como pobres respondedores. La cinética de inmunodeprivación activa del EGF en suero se acelera sin modificar el patrón reportado de inmunodominancia. **Conclusiones.** La inmunización en múltiples sitios anatómicos y con altas dosis, induce una respuesta inmune robusta que impacta en el incremento de la mediana de supervivencia y la tasa de supervivencia a los 24 meses de los pacientes.

Protección conferida por la vacuna antileptospirósica vax-SPIRAL® frente a diferentes cepas heterólogas en el biomodelo Hámster Sirio. R Oliva*, N Batista, A Talavera, JF Infante, K Blain, LG García, RL Solís. Instituto Finlay, La Habana, Cuba. *roh@finlay.edu.cu

Introducción. La leptospirosis continúa siendo una zoonosis de gran importancia en el mundo, pues ocasiona la muerte en los animales y el hombre, además de considerables pérdidas económicas. En este sentido las vacunas constituyen una valiosa herramienta para controlar la enfermedad. **Objetivo.** Evaluar la protección conferida por la vacuna antileptospirósica vax-SPIRAL® para uso humano frente a diferentes cepas heterólogas de *Leptospira* en el biomodelo Hámster Sirio. **Resultados.** Se realizaron tres experimentos con 8 cepas de aislamientos clínicos que pertenecen a los serogrupos *Ballum*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona* y *Serjoe*. En el primer experimento se determinó la virulencia de cada una de las cepas. En el segundo experimento se evaluó la capacidad protectora de la vacuna vax-SPIRAL® frente a estas cepas, con diferentes esquemas de inmunización. En el tercer experimento se evaluó la protección conferida por el suero de individuos inmunizados con vax-SPIRAL® frente a estas cepas. Se realizaron estudios clínicos, anatomopatológicos en los tres experimentos. Todas las cepas resultaron altamente virulentas. Quedó demostrada la protección de todos los animales vacunados con vax-SPIRAL® y el suero de individuos inmunizados; no se observó en ningún caso signos clínicos de la enfermedad ni lesiones anatomopatológicas, no ocurriendo así en los animales controles. En el segundo y tercer experimento se realizó, además, estudios de prevalencia de leptospiras en órganos; no evidenciándose esta en ninguno de los animales inmunizados. **Conclusión.** Se demuestra que la vacuna antileptospirósica vax-SPIRAL® confiere protección frente a diferentes cepas heterólogas en el biomodelo Hámster Sirio.

Efecto inmunomodulador del ozono sobre los leucocitos. Evaluación *in vitro* e *in vivo*. J Díaz *, NI Martín, S Menéndez¹. Hosp. "Roberto Rodríguez Fernández", Morón, Ciego de Ávila; ¹Centro de Investigaciones del Ozono, La Habana, Cuba. *alexsanchez@moron.cav.sld.cu

Introducción. La inmunomestimulación con ozono se ha fundamentado en sus acciones sobre las células del sistema inmune y sobre el metabolismo oxidativo. Las infecciones recurrentes presentes en las deficiencias fagocíticas producen un microambiente celular poco oxigenado y estrés oxidativo crónico. Tomando en consideración que la ozonoterapia es una modalidad terapéutica natural, segura y factible. **Objetivos.** Evaluar el efecto inmunomodulador del ozono. **Resultados.** Mediante un diseño experimental *in Vitro* se determinó el mecanismo de reacción, al incubar los granulocitos, obtenidos por la técnica de aislamiento de neutrófilos en dextrán 40, con ozono a razón de 20 a 40 µg de ozono/mL de sangre. Mediante un diseño preexperimental *in vivo*, se aplicó ozono (40 µg/mL) por insuflación rectal a 10 niños con disminución de la fagocitosis durante tres meses. Las variables fueron evaluadas un mes después del tratamiento. Se aplicó la prueba T de medias para muestras dependientes, con un nivel de significación $\alpha=0,05$. Las mediciones mostraron aumentos significativos en la función fagocítica en la sangre tratada con ozono. El 94% de los niños tratados mostraron

incrementos significativos de la fagocitosis en leucocitos de sangre periférica después de la ozonoterapia, el estado clínico, fue satisfactorio y no se reportaron reacciones adversas durante el tratamiento. **Conclusión.** Se sugiere este proceder terapéutico como terapéutica complementaria inmunoestimulante en los defectos en la inmunidad mediada por fagocitos.

Uso de Intacglobín en la inmunodeficiencia común variable. Presentación de un caso. R Puga*. Cira García, La Habana, Cuba. *puga@infomed.sld.cu

Introducción. La inmunodeficiencia común variable (hipogammaglobulinemia adquirida) afecta a hombres y mujeres, generalmente los pacientes se vuelven sintomáticos, entre los 15 y 35 años de edad, además de un aumento en la susceptibilidad a las infecciones piógenas, tienen una frecuencia aumentada de padecimientos autoinmunes. La mayor complicación es la enfermedad pulmonar crónica. La principal característica inmunológica es la disminución marcada de la IgG, pudiendo ocurrir afectación progresiva de las células T. **Objetivos.** Describir la evolución y respuesta al tratamiento del paciente después de usar la gammaglobulina intravenosa (Intacglobín). **Resultados.** Paciente con historia de neumonías a repetición y sinusitis crónica. Se le administró el Intacglobín a dosis de 30 g intravenosos con frecuencia mensual, alternando con otra gammaglobulina intravenosa, Endobulin, después de los primeros seis meses de tratamiento el paciente tiene mejora en la calidad de vida, por disminución de los procesos sépticos, pero mantiene la disminución marcada de la IgG y de la IgA e IgM. En el mes de diciembre se realiza un estudio tomográfico de pulmón que tiene imágenes micronodulares bilaterales, aún sin diagnóstico final. **Conclusión.** El Intacglobín es una gammaglobulina de producción nacional que ha permitido una mejoría en la calidad de vida y reemplazo satisfactorio temporal en los niveles tan bajos de inmunoglobulinas del paciente.

Seguridad viral de la vacuna antihepatitis B Heberbiovac® HB. E Noa*, MR Alemán¹. Y Sánchez, L Navea, M Dubed, G Álvarez, A Tamaño, W Ferro, T Álvarez, L Lobaina, R Valdés. LISIDA, Mayabeque; ¹CIGB, La Habana, Cuba. *lisida@infomed.sld.cu

Introducción. La vacuna cubana antihepatitis B (Heberbiovac® HB) tiene como materia prima crítica de origen biológico el anticuerpo monoclonal (AcM) CB.Hep-1, empleado como inmunoligando para la purificación del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B recombinante (AgsHBr). **Objetivo.** Validar la capacidad de aclaramiento viral de la etapa de purificación del AcM CB.Hep-1 por proteína A empleando como materia prima ascitis sin precipitar. **Resultados.** Se utilizó un factor de desescalado del volumen de gel al 2% con respecto a la escala industrial y se retó el proceso de purificación del AcM, así como el protocolo de higienización, con modelos virales (ADN y ARN) que abarcan todas las posibles familias de virus murinos y tienen un amplio espectro de resistencia a los agentes inactivantes. El proceso de purificación establecido con la aplicación del fluido ascítico directamente a la columna cromatográfica de afinidad proteína A resultó ser moderadamente efectivo en la remoción de los posibles contaminantes virales de la materia prima y el protocolo de higienización del gel cromatográfico permitió eliminar las posibles partículas virales que quedan retenidas dentro de la columna. **Conclusión.** El factor de aclaramiento viral del proceso de purificación del AcM CB.Hep-1 le confiere un adecuado nivel de seguridad viral a la vacuna cubana recombinante Heberbiovac® HB.

Respuesta inmunológica a la vacuna contra el virus de hepatitis B en un grupo de riesgo. MM Álvarez*, MA Puig, I Gómez¹, G del Barrio². Cira García; ¹CIE; ²Univ. de La Habana, La Habana, Cuba. *milagrosa@infomed.sld.cu

Introducción. La hepatitis causada por el virus de hepatitis B (VHB) es una de las infecciones ocupacionales de mayor prevalencia en el ámbito hospitalario, los trabajadores de la salud constituyen un grupo de riesgo por lo que es importante conocer los niveles de anticuerpos protectores específicos al virus en el personal vacunado. **Objetivo.** Realizar la determinación de anti-HBs a 76 trabajadores de la Clínica Cira García, inmunizados con la vacuna recombinante cubana Heberbiovac-HB, y conocer si están protegidos o no. **Resultados.** Se tuvo en cuenta edad y sexo y empleamos UMELISA ANTI-HBs®, con criterios de inmunidad: anti-HBs ≥ 10 UI/L. Calculamos la media geométrica para ambos sexos y grupos de edades, y se hizo prueba estadística Mann-Whitney, para determinar diferencias significativas entre variables. La seroprotección constituye la categoría principal para evaluar la inmunogenicidad de la vacuna y fue de 75%. El sexo influye en los niveles de respuesta de anticuerpos, encontrándose diferencia significativa, con predominio de hiperrespuesta en el sexo femenino. La edad se relaciona con la disminución de la respuesta inmune, observándose diferencia significativa entre ambos grupos. Los resultados corroboran que menores de 40 años en general y en particular las mujeres, tienen respuestas superiores frente a la vacuna. **Conclusión.** La vacunación contra el VHB constituye la principal medida de prevención en el personal con riesgo, por lo que establecer programas de vacunación en el personal sanitario, además de poner en práctica normas de bioseguridad, de estricto cumplimiento para disminuir los accidentes, ha proporcionado una reducción drástica de incidencia de la infección.

Reversión de un perfil Th2 previamente instaurado a un patrón Th1 mediante la inmunización con el candidato vacunal TERA-VAC. D García*, Y del C. Santisteban, I Rodríguez, E Brown, E Iglesias. CIGB, La Habana, Cuba. *darien.garcia@cigb.edu.cu

Introducción. La infección por VIH y su progresión a SIDA está asociada a un gradual deterioro del sistema inmune. Entre otros fenómenos, el cambio del patrón Th1 de la respuesta inmune primaria a un patrón Th2 también ha sido reportado como indicador del desarrollo del SIDA. Este cambio constituye una de las estrategias del virus mediante la cual afecta la respuesta celular reportada como la más eficaz en el control de la enfermedad. En experimentos previos se demostró que la inmunización en ratones con el antígeno CR3 inducía un patrón de respuesta Th2 en tanto que su coadministración con los antígenos core y de superficie del virus de la hepatitis B producía una respuesta de patrón Th1. **Objetivo:** Comprobar si la formulación CR3+HbsAg+HbcAg es capaz de revertir un patrón Th2 previamente instaurado a un patrón Th1. **Resultados.** La inmunización con lisado viral o con el antígeno CR3 en alúmina indujeron un patrón Th2 caracterizado por títulos de IL-4 e IL-10 en ausencia de IFN- γ e IgG2a. La posterior inmunización con la formulación CR3+HbsAg+HbcAg condujo a la aparición de una respuesta caracterizada por la secreción de INF- γ en tanto las mediciones de IL-4 e IL-10 resultaron negativas. El gradual incremento de los animales en generar títulos de IgG2a sugiere una relación entre la generación del patrón Th1 y el número de dosis. **Conclusión.** La formulación CR3+HbsAg+HbcAg es capaz de revertir un patrón Th2 a un patrón Th1 previamente instaurado con el propio antígeno o el lisado viral.

Modelación computacional del sistema inmune: recursos disponibles para el Sistema Nacional de Salud. OR Serrano*, N Orive. Centro Prov. Genética Médica, Las Tunas, Cuba. *orlando@cucalambe.ltu.sld.cu

Introducción. La inmunoinformática es una disciplina emergente de aplicación de la modelación computacional a los procesos y eventos inmunitarios, con implicaciones para la solución de cuestiones relevantes en inmunobiología y vacunología. La mayor parte de los procesos inmunitarios han sido modelados desde la informática, lo que ha sido favorecido por la acumulación de décadas de conocimiento acerca de las bases moleculares del reconocimiento antigénico. Se dispone hoy en línea de un grupo de herramientas diversas que pueden ser de utilidad para la modelación, aplicación y evaluación de numerosos eventos en el campo de la inmunología. **Objetivo.** Diseminar información y promover el acceso y la utilización de recursos bioinformáticos para la modelación computacional del sistema inmune entre los profesionales y técnicos del sistema de salud en Cuba. **Resultados.** Se diseñó y puso en línea el sitio web Bioinformática para la salud (<http://blogs.sld.cu/oserranob/>) en el cual, desde el 23 de junio de 2010, se han publicado 46 noticias relacionadas con aplicaciones bioinformáticas en la salud humana. Cuenta con una página dedicada a la inmunoinformática (<http://blogs.sld.cu/oserranob/inmunoinformatica/>) desde la que puede accederse a 20 bases de datos y algoritmos relacionados con el sistema inmune y 13 artículos científicos sobre esta temática. Hay también información disponible sobre otras herramientas bioinformáticas, genomas, revistas y eventos. **Conclusión.** El desarrollo de habilidades bioinformáticas y su introducción en la experimentación y modelación de eventos diversos, a escala individual y poblacional, abre nuevas posibilidades para el desarrollo e integración en la inmunología dentro del sistema nacional de salud.

Finlay Ediciones. Editorial especializada en Vacunología. R Ochoa*, V Betancourt, J Menéndez, MT Carballo, N González, Y Puig, R Chávez. Instituto Finlay, La Habana, Cuba. *ochoa@finlay.edu.cu

Introducción. Nuestro país cuenta con editoriales y sitios webs dedicados a diversos campos de las ciencias biomédicas, sin embargo, no contaba con una especializada en el campo de la Vacunología. **Objetivos.** Crear una editorial que mostrara, mediante ediciones impresas y electrónicas, el desarrollo que en el campo de las vacunas tiene nuestro país. **Resultados.** En 1995 se crea Finlay Ediciones, editorial científica especializada en Vacunología y temas afines, única con estas características en Latinoamérica. Se caracteriza por ofertar sus productos, tanto impresos como electrónicos, de forma gratuita y con libre acceso. Edita folletos, memorias, compilaciones, selección de publicaciones y libros, así como la revista *VacciMonitor*, producto líder de la editorial, acreditada por el CITMA. Cuenta con una edición impresa, además de la electrónica; de acceso libre desde diversos sitios webs y numerosas bases de datos, lo que la hace más atractiva al facilitar la rápida difusión de los resultados científicos, así como posibilitar ediciones con actualizaciones dinámicas y con amplio acceso internacional. En los últimos años se han registrado entre 38000 y 52000 accesos anuales a nuestro sitio web. Entre los países que más nos han visitado están: Cuba, México, Perú, Argentina, Colombia, España, Brasil, Francia, Canadá, Bélgica y Estados Unidos. La participación de autores extranjeros en *VacciMonitor* se

ha incrementado en un 16,36% en los últimos años. **Conclusión.** Finlay Ediciones ha contribuido modestamente con el aumento de la visibilidad de las Ciencias Médicas de Cuba y en particular de la Vacunología.

Carteles

Sesión I. Alergia, Autoinmunidad y Neuroinmunología

Tribunal: Elena Kokuina, Maytee Mateo, Raúl Castro y Lourdes Lorigado

I-1 Evaluación de la eficacia diagnóstica de hipersensibilidad inmediata de un extracto alergénico cubano de soja. I Figueroa*, I Struch, A Labrada¹. Hosp. Hnos. Ameijeiras. La Habana; ¹BIOCEN. Bejucal, Cuba. *iglermis@infomed.sld.cu

Introducción. La soja o soya, por su valor nutricional ha experimentado en los últimos años un incremento sustancial en su consumo lo que ha comprometido las reacciones alérgicas a la misma. **Objetivo.** Evaluar la exactitud y seguridad diagnóstica de un extracto cubano de soja para diagnóstico por *prick test* de la alergia alimentaria, calculando la especificidad, sensibilidad y eficacia de dicho extracto, así como identificar la concentración adecuada para el diagnóstico de alergia alimentaria y las posibles reacciones adversas. **Resultados.** Se incluyeron 30 pacientes con el diagnóstico de alergia alimentaria a soja y 30 supuestamente sanas. Se recolectaron datos clínicos y alergológicos. A todos los individuos se les realizó prueba cutánea por punción con extracto de soja elaborado por el BIOCEN e IgE sérica global. De los pacientes alérgicos a soja resultaron positivos un 60% al extracto de soja grano y 43,3% positivos al de soja cáscara. En el grupo control todos los pacientes resultaron negativos para ambos extractos ($p < 0,05$). La especificidad para ambos extractos y ambas diluciones (0,5 mg/mL y 1 mg/mL) fue del 100%. El extracto de soja grano 1 mg/mL mostró una sensibilidad del 60%, una especificidad de 100% y una eficacia de 80%. Los sueros analizados reconocieron una banda de aproximadamente 22 kDa compatible con un alérgeno mayor de la planta. **Conclusiones.** El extracto cubano de soja posee exactitud y seguridad diagnóstica y la concentración adecuada para el diagnóstico de alergia alimentaria a soja es de 1 mg/ML.

I-2 Contaminantes microbiológicos en cultivo de ácaros con destino a la fabricación de vacunas alergénicas. M Sánchez*, D Torralba, BL García, Y Oliva, A Labrada. BIOCEN, Bejucal, Cuba. *sanchezm@biocen.cu

Introducción. Los ácaros del polvo doméstico constituyen la principal fuente de aero-alérgenos en las condiciones tropicales. Estos ácaros coexisten en su hábitat natural con diferentes microorganismos, compartiendo relaciones simbióticas. El cultivo de ácaros en condiciones de laboratorio constituye el proceso inicial en la fabricación de vacunas alergénicas para la inmunoterapia del asma y alergia respiratoria. Los contaminantes microbianos en estos cultivos y en particular las endotoxinas, pueden modificar la efectividad de estas vacunas. **Objetivos.** Caracterizar microbiológicamente las especies de ácaros *Blomia tropicalis* y *Dermatophagoides siboney* durante su cultivo en el proceso de producción de la materia prima alergénica. **Resultados.** La carga microbiana durante el cultivo de *B. tropicalis* osciló entre $0,60 \times 10^2$ a $1,57 \times 10^3$ UFC /g de bacterias y 0,10 a $1,60 \times 10^2$ UFC/g para la especie *D. siboney*. En los hongos el promedio fue de $0,5 \times 10^2$ UFC/g y entre 0,10 a $0,42 \times 10^2$ UFC/g, respectivamente. Las bacterias encontradas en ambas especies fueron entéricas, *Bacillus spp*, *Staphylococcus spp* y *Enterococcus* y los hongos *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Trichoderma* y *Mucor spp*. La caracterización sugiere que los mismos provienen fundamentalmente del pie de cría, aislado del polvo casero y en menor medida del ambiente. **Conclusiones.** Los datos obtenidos sobre la carga microbiana durante el proceso del cultivo de los ácaros son útiles para la estandarización del mismo, con fines farmacéuticos. Además, representa las bases para el posterior establecimiento de límites microbianos en el cultivo, así como de endotoxinas en el producto final.

I-3 Inmunogenicidad de alérgenos de *Dermatophagoides siboney* adsorbidos en Hidróxido de Aluminio formulados con diferentes tampones. Y Alonso*, R Samalea, A Labrada, Y Oliva, D Torralba, R Cruz, M Mateo. BIOCEN, Bejucal, Cuba. *yarima.alonso@biocen.cu

Introducción. Los iones fosfato interfieren en la adsorción de la proteína alergénica Der s1 del ácaro *Dermatophagoides siboney* al gel de hidróxido de aluminio. **Objetivo.** Evaluar la inmunogenicidad de diferentes formulaciones de una formulación vacunal de alérgenos de *D. siboney*, adsorbida en gel de hidróxido de aluminio en presencia de diferentes soluciones tampones. **Resultados.** Se formularon variantes diferentes tampones: PBS, TRIS, y Acetato de Sodio (NaAc),

así como sin tampón en NaCl, todas a pH fisiológico. Se evaluó la adsorción de Der s 1 al gel mediante ELISA-MAb sandwich indirecto. Se evaluó la inmunogenicidad en ratones Balb/c administrando por vía subcutánea 0,5 mL de cada formulado a 0 y 10 días. Se tomaron muestras de sangre a 0 y 17 días. Al suero se le determinó IgG específica por ELISA. La adsorción de Der s 1 fue muy satisfactoria con las variantes de tampones TRIS y NaAc, así como sin tampón (99,9%) en contraste con el tampón PBS (89,6%). Los niveles de IgG específica fueron algo mayores para TRIS y menores para NaAc en comparación con PBS, aunque sin significación estadística ($p < 0,05$). **Conclusiones.** Los resultados demostraron la factibilidad del uso de las nuevas variantes de tampones (TRIS, NaAc) así como de una formulación no tamponada, ya que, demostraron alta adsorción de Der s 1 e inmunogenicidad no inferior a la variante con fosfato.

I-4 Influencia de iones fosfato en la adsorción conjunta de alergen de *Dermatophagoides siboney* y proteoliposomas de *Neisseria meningitidis* al gel de hidróxido de Aluminio. R Samalea*, A Labrada, A Mas, D Martínez, Y Oliva. BIOCEN, Bejucal, Cuba. *roxana.samalea@biocen.cu

Introducción. El proteoliposoma (PL) de *N. meningitidis* funciona como adyuvante anti-alérgico cuando es administrado conjuntamente con alergen de *Dermatophagoides siboney*. Estudios anteriores han empleado gel de hidróxido de aluminio como adyuvante de depósito que posibilita la presentación simultánea del alergen y del PL a las células presentadoras de antígenos. Uno de los problemas es que no se han logrado niveles óptimos de adsorción de Der s1 (alergen mayor de *D. siboney*), debido a interferencias de los iones fosfatos del tampón. **Objetivo.** Evaluar variantes de formulación cambiando el orden de adición, así como reduciendo el contenido de fosfatos, en busca de mejorar la adsorción de Der s1. **Resultados.** Se empleó tampón PBS y una variante del mismo con reducción a la mitad de los fosfatos ($\frac{1}{2}$ PBS) Se realizaron 4 variantes de orden de adición de los ingredientes. Se determinó la adsorción de Der s1 por ELISA-MAb y de PL mediante D.O. 280 nm y Lowry. La variantes con mejores resultados fueron aquellas con adición del tampón al final y en particular con tampón $\frac{1}{2}$ PBS (99,98% de adsorción de Der s1), así como sin tampón, solo NaCl (99,99%). El orden de adición de alergen o PL no influyó sustancialmente. La mezcla previa de ambos tampoco resultó ventajosa. La adsorción de PL no fue afectada en ninguna variante ($>99,9\%$). **Conclusión.** Se obtuvo una adsorción óptima tanto de Der s1 como de proteoliposoma en ausencia de tampón PBS o con la reducción de la concentración de sales de fosfatos a la mitad.

I-5 Caracterización inmunológica de la sensibilización alérgica a la harina de trigo en adultos cubanos. M Mateo*, D Torralba, A Labrada, R Cruz, Y Oliva, R Castro. BIOCEN, Bejucal, Cuba. *mayteemm@biocen.cu

Introducción. La alergia alimentaria consiste en manifestaciones de hipersensibilidad hacia determinadas proteínas alérgicas. El trigo es un cereal muy consumido en todo el mundo y en particular en Cuba y se encuentra comúnmente como ingrediente de otros alimentos. En la alergia alimentaria desempeña un papel importante la IgE alergen-específica, en contraste el papel de la IgG4, también presente en pacientes alérgicos es contradictorio. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el perfil antigénico y alérgico en cuanto a reconocimiento de diferentes proteínas del trigo en pacientes adultos cubanos con manifestaciones clínicas de alergia alimentaria o respiratoria. **Resultados.** Se realizó pruebas de prick-test empleando un extracto alérgico experimental obtenido a partir de harina de trigo, a 328 pacientes con diferentes manifestaciones alérgicas. Se analizó el perfil alérgico de 25 pacientes mediante Western Blot de IgE, IgG, e IgG4. Los 25 pacientes resultaron positivos por Prick-Test (7,6%), cifra similar a adultos de otros países. El reconocimiento de la IgE estuvo dirigido fundamentalmente a los componentes de 45kD, probablemente gliadina, de importancia en el diagnóstico de la enfermedad celíaca y de 15 kD (identificada tentativamente como subunidades de la α -amilasa/tripsina). Ambos alergen han sido reportados de importancia clínica. La respuesta de IgG e IgG4 coincidió en esos componentes, aunque mostró también otras bandas. **Conclusión.** La frecuencia y especificidad de la respuesta IgE hacia proteínas del trigo en adultos alérgicos cubanos es similar a lo evidenciado en otras áreas geográficas.

I-6 Caracterización de la sensibilización a tres ácaros domésticos en la población infantil alérgica de Bejucal. MC Reyes*, A Labrada¹, M Mateo¹, A López². UCM de la Habana, ¹BIOCEN y ²Hosp. Leonor Pérez, La Habana. Cuba. *maryreyes@infomed.sld.cu

Introducción. Las enfermedades alérgicas constituyen un problema de salud mundial, estando los ácaros entre sus principales agentes etiológicos. **Objetivo.** Caracterizar la sensibilización a *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp), *D. siboney* (Ds) y *Blomia tropicalis* (Bt). Se estudiaron 103 niños con edades entre 3 y 15 años que asistieron a la

consulta de alergia del Policlínico Bejucal, entre Septiembre 2009 y Septiembre 2010. **Resultados.** Se encontró una mayor sensibilización a *Dp* seguido de *Ds* y *Bt*. *Dp* mostró la mayor media geométrica del diámetro del habón. Al menos dos de cada cinco niños estaban sensibilizados a un ácaro y uno de cada cinco a los tres simultáneamente. La intensidad de sensibilización a cada ácaro y el número de sensibilizaciones mostraron una relación directa con la edad. En todas las edades se reconocieron mediante Western Blot IgE las bandas correspondientes a los alérgenos mayores de los tres ácaros. La sensibilización a los tres ácaros fue muy similar en la zona urbana, no así en la zona rural donde existió predominio de sensibilización a *Dp*. Predominaron los niños con mayor índice de exposición al polvo doméstico, presentando ellos mayor sensibilización para *Dp* y *Ds*. En los pacientes sensibilizados, el asma siempre estuvo acompañada de rinitis, siendo en este grupo significativamente mayor la media geométrica del diámetro del habón para *Dp* y *Ds*. **Conclusión.** Estos datos apuntan a la necesidad y posible utilidad de extender el uso de la inmunoterapia específica en los niños alérgicos a los ácaros.

I-7 Evaluación de la eficacia y tolerabilidad de la inmunoterapia subcutánea con ácaros en adultos asmáticos.

J Rodríguez*, M Morales. Hosp. "Manuel Ascunce Doménech", provincia de Camagüey, Cuba. *rpjudit@finlay.cmw.sld.cu

Introducción. La inmunoterapia alérgica específica se considera la única estrategia de tratamiento que modifica la historia natural de la enfermedad alérgica. La vía subcutánea es la forma clásica de administración. **Objetivo.** Evaluar la eficacia y tolerabilidad de una pauta convencional subcutánea más acelerada que la usualmente empleada en nuestro servicio, con extractos acuosos de ácaros. **Resultados.** Se realizó un ensayo clínico abierto, aleatorizado en 50 asmáticos, los cuales se asignaron a dos grupos, el 1 recibió pauta de 13 semanas (mantenimiento 10 µg/mL) y el 2 recibió pauta de 16 semanas (mantenimiento 3 µg/mL), durante 1 año. Predominó el sexo femenino y las edades entre 18 a 27 años. En la evaluación de la eficacia existió una mejoría en ambos grupos con una reducción significativa de los síntomas y el consumo de medicación ($p=0,0020$) en el grupo 1. La reactividad cutánea a *Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides siboney* objetivó una reducción mayor en el grupo 1 en relación con el 2 ($p=0,0013$ y $p=0,0262$, respectivamente), no comportándose igual *Blomia tropicalis*, en el que la reducción del habón no fue significativa. De un total de 1335 inyecciones administradas en ambas fases del tratamiento se presentaron 18 reacciones (1,34%), en su mayoría en el grupo 1, de preferencia locales y en la fase de inicio. **Conclusión.** La inmunoterapia con ácaros resultó ser eficaz en ambos grupos, aunque significativamente mayor con la nueva pauta, lo que está en relación con la dosis de alérgeno utilizada y la mayor rapidez con que se alcanza el mantenimiento.

I-8 Validación de un algoritmo diagnóstico para la detección de autoanticuerpos en enfermedades autoinmunes sistémicas.

D Marrero*, E Kokuina, M González, Y Peña, M Estévez, A Chico, D Pérez, A Argüelles, N Casas. Hosp. "Hnos. Ameijeiras", La Habana Cuba. *inmunologia@hha.sld.cu

Introducción. Las solicitudes de las determinaciones de anticuerpos antinucleares (ANA), anti-DNA de doble cadena (anti-DNAc) y antiantígenos nucleares extraíbles (anti-ENA) para el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes reumáticas han incrementado notablemente en años recientes. **Objetivo.** Definir el valor diagnóstico de un protocolo para el estudio secuencial de los anticuerpos antinucleares que permita el uso racional de las determinaciones de nivel secundario (anti-DNAc y anti-ENA) aplicado en el Hospital "Hermanos Ameijeiras" desde septiembre del 2010. **Resultados.** La aplicación del protocolo en 1149 solicitudes consecutivas de determinación de ANA, correspondientes al período desde septiembre hasta febrero del 2011, conllevó a la reducción de las pruebas de especificidades antinucleares de nivel secundario (de 31,9% a 21,6% para los anticuerpos anti-ENA; y de 31,2% a 14,8% para los anticuerpos anti-DNAc). El valor predictivo positivo (VPP) de las pruebas de primer nivel para los anti-ENA resultó del 86,5% y para los anti-DNAc del 27,4%. **Conclusión.** La aplicación de este algoritmo diagnóstico permitió una notable reducción de las pruebas de anticuerpos anti-ENA y anti-DNAc de nivel secundario, lo que contribuye a optimizar el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes reumáticas y la eficiencia económica.

I-9 Inmunoglobulinas séricas en pacientes con insuficiencia arterial crónica grado II tratados con Filgrastim.

E Hernández*, S Castillo, V Prevot. Hosp. Carlos J Finlay. La Habana, Cuba. *eraidahdez@infomed.sld.cu

Introducción. El Filgrastim G-CSF es un factor estimulante de colonias que induce la proliferación, diferenciación, y activación de células progenitoras comprometidas y regula la producción y liberación de los neutrófilos funcionales en la

médula ósea con aumento del número de monocitos. Sus efectos sobre la respuesta inmune han sido poco estudiados. **Objetivo.** Determinar el comportamiento de la respuesta inmune humoral en pacientes tratados con Filgrastim, mediante el estudio de las Inmunoglobulinas séricas IgG, IgA, IgM e IgE y las proteínas del complemento C3 y C4. **Resultados.** Se estudiaron 30 pacientes con diagnóstico de insuficiencia arterial crónica grado II de entre 37 y 81 años de edad, de ambos sexos, a los que se les administró el G-CFS a 10 µg/kg/dosis en 4 subdosis. Se evaluó la respuesta inmune humoral y otras variables hematológicas, así como la evolución clínica de los pacientes. Estos fueron chequeados a la 1^{ra} y 4^{ta} semana, a los 3 y 6 meses y al año posterior a la movilización. La respuesta inmune humoral no sufrió modificaciones en la muestra estudiada, excepto la cuantificación de la IgE que disminuyó en 5 de los pacientes (16,6%). Los síntomas más frecuentes fueron la artralgia y la cefalea. Se obtuvo mejoría clínica y la leucocitosis esperada en todos los casos. **Conclusiones.** El tratamiento con Filgrastim fue un método efectivo y seguro para estos pacientes, permitiendo la movilización de células progenitoras hacia la sangre periférica y no produjo efectos sobre la respuesta inmune humoral en los parámetros estudiados.

I-10 Significado clínico de los isotipos IgA e IgM de factor reumatoideo en pacientes con artritis reumatoide.

M González^{*}, E Kokuina, D Marrero, A Chico, Y Peña, J Soto. Hosp. "Hnos. Ameijeiras", La Habana, Cuba. *inmunologia@hha.sld.cu

Introducción. El factor reumatoideo (FR) es el autoanticuerpo de mayor importancia diagnóstica en la artritis reumatoide (AR). Actualmente ha sido recomendada la combinación de los isotipos IgM e IgA del FR (FR-IgM e RF-IgA) para elevar la sensibilidad diagnóstica de la AR. **Objetivos.** Determinar la prevalencia de los isotipos FR-IgM y RF-IgA por el ensayo inmunoenzimático de fase sólida (ELISA) en pacientes con AR establecida y evaluar sus características diagnósticas. **Resultados.** La prevalencia de FR-IgM/GA, FR-IgM, y FR-IgA (ELISA) en 60 pacientes con AR establecida vs. los controles a títulos de corte óptimos resultó de 52%, 40% y 28%, respectivamente ($p < 0,000$). La sensibilidad diagnóstica del método convencional de aglutinación (FR-IgM látex) resultó del 57%. El FR-IgA no se encontró en ninguno de los 26 sueros de pacientes "seronegativos" de FR-IgM látex. La concordancia entre los resultados del FR-IgM/GA y el FR-IgM látex fue del 85% ($p < 0,001$). Se encontró correlación de los FR-IgM/GA, FR-IgM, FR-IgA y FR por látex a títulos mayores de 100 u/mL con la proteína C reactiva (PCR) ($p < 0,05$). **Conclusiones.** Aunque las determinaciones de los isotipos FR-IgM y FR-IgA mostraron un notable significado diagnóstico en la AR, este fue superado por el FR-IgM látex. El análisis de los isotipos del FR no resultó útil para clasificar a los pacientes "seronegativos" de AR. La asociación del FR-IgM y FR-IgA con marcadores serológicos de actividad de la enfermedad sugieren su valor pronóstico en la AR.

I-11 La proteína C reactiva y la presencia y extensión angiográfica de la enfermedad arterial coronaria.

F de la C. Heres^{*}, A Peix, J Soto¹, J Bacallao², R Ravelo³, O González, J M Llanes. ICCCV; ¹Hosp. Hnos. Ameijeiras; ²CIRAH; ³Hosp. Carlos J. Finlay, La Habana, Cuba. *flor.heres@infomed.sld.cu

Introducción. Estudios prospectivos han demostrado que la proteína C reactiva (PCR) es un predictor de riesgo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica. Sin embargo, la asociación entre los niveles de PCR y la carga aterosclerótica coronaria, permanece controversial. **Objetivo.** Identificar la posible relación entre los niveles de PCR y la presencia y extensión de la enfermedad de arterias coronarias (EAC) demostrada angiográficamente. **Resultados.** Se estudiaron 247 pacientes, a los que se les realizó angiografía coronaria electiva. Las concentraciones séricas de PCR fueron determinadas mediante un método inmunturbidimétrico de alta sensibilidad. Según los resultados angiográficos (presencia o no de estenosis coronaria = 50%) los pacientes fueron divididos en dos grupos: EAC (enfermedad de 1, 2 o 3 vasos) y grupo control. La mediana de los niveles de PCR fue ligeramente superior en el grupo de pacientes con EAC respecto al grupo control [3,24 (4,64) mg/L vs 2,30 (3,44) mg/L], sin diferencias significativas ($p = 0,297$). En los grupos con enfermedad de 1, 2, o 3 vasos, la mediana de los niveles de PCR fue: 3,14 (4,71) mg/L, 2,81 (3,47) mg/L y 3,30 (4,95) mg/L, respectivamente ($p = 0,439$). La PCR no añadió información adicional a los factores de riesgo clásicos (curva ROC, área bajo la curva: 0,65 vs. 0,66, respectivamente) en la predicción de EAC estable. **Conclusión.** Los niveles de PCR no se relacionaron con la presencia y extensión de la aterosclerosis coronaria evaluada angiográficamente en pacientes con enfermedad de arterias coronarias estables.

I-12 Evaluación de péptido antagonista de IL-15 en un modelo de artritis inducida por colágenos en ratones DBA/1.

A Santos^{*}, O Reyes, H Jerónimo, Y Rodríguez, F Artruda¹, L Silengo, GE. Guillen. CIGB, La Habana, Cuba y ¹Univ. de Turín, Italia. *alicia.santos@cigb.edu.cu

Introducción. La Interleucina-15 (IL-15) es una citocina proinflamatoria que se expresa de forma descontrolada en muchas enfermedades autoinmunes e inflamatorias. En particular en la artritis reumatoide, una enfermedad que afecta

entre el 1-2% de la población adulta, existen evidencias que avalan a la IL-15 como un posible blanco terapéutico. Identificamos una secuencia, que es reconocida por la subunidad alfa del receptor para IL-15 (hIL-15R α). Esta secuencia sintetizada como un péptido de 10 aa, bloquea la actividad biológica de la IL-15 en dos líneas celulares dependientes de esta citocina, mostrando propiedades antagonistas **Objetivos.** Evaluar el efecto del péptido antagonista en un modelo murino de artritis inducida por colágeno. **Resultados.** Se diseñaron grupos de 10 animales en los que se evaluaron dos dosis del péptido de 5 y 10 mg/Kg de peso inoculadas por vía intraperitoneal en ratones DBA/1, a los que previamente se indujo la artritis por inoculación de colágeno en adyuvante de Freund, un grupo control no tratado con el péptido y un grupo de animales sanos. Después de 5 dosis de tratamiento espaciadas por 1 día se observó una reducción importante de los signos de inflamación en los animales tratados con el péptido a la dosis de 10 μ g/Kg de peso. **Conclusión.** El péptido antagonista de IL-15 identificado produce reducción de los signos de inflamación en un modelo de artritis inducida por colágeno.

I-13 Nuevos enfoques de inmunoterapias combinadas en esclerosis múltiple. G Pentón*, N Lagumersindez¹, V Falcón, A Llópiz, K Macías, A Blanco, C Valenzuel, E Rodríguez, I Ocampos, C Mesa², M Cervantes, EF Acostl, J Marín¹, G Guillén, P López, E Pentón¹. CIGB; ¹IFAL; ²CIM. *giselle.penton@cigb.edu.cu

Introducción. La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad desmielinizante de etiología autoinmune que afecta fundamentalmente a adultos jóvenes. Los tratamientos internacionales aprobados para esta enfermedad son poco eficaces y altamente costosos. Mientras se han producido notables avances en las terapias dirigidas a la disfunción del sistema inmune, existe una urgente necesidad del desarrollo de fármacos encaminados a proteger de la desmielinización y pérdida axonal que forman parte del mecanismo patogénico de la EM. **Objetivos.** Generar el modelo animal de EM, encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) en ratones C57BL6 y evaluar la combinación de IFN α y C-Ficocianina desde el punto de vista clínico, mediciones de células T reguladoras en bazo, citoquinas efectoras y reguladoras por qPCR en cerebro y séricas por Bioplex, así como análisis ultraestructurales por microscopía electrónica. **Resultados.** Los resultados evidenciaron una disminución de los signos clínicos, una inducción de células CD4+Foxp3+ en bazo y disminución de citoquinas efectoras, como IL-17, en el cerebro y en el suero. El estudio ultraestructural demostró protección de la desmielinización sin signos de daño axonal en los animales tratados. **Conclusión.** Nuestro estudio, en consonancia con los enfoques actuales sobre el uso de terapias combinadas, aporta evidencias de una terapia que actúa tanto sobre el componente inmune como desmielinizante del mecanismo patogénico de la EM, constituyendo una estrategia atractiva y potencialmente eficaz para futuros ensayos clínicos en pacientes con EM.

I-14 Nuevos eventos moleculares en la patogénesis y mecanismos de acción de terapias en enfermedades desmielinizantes. M Cervantes*, G Martínez¹, C Valenzuela, PA López, I Lopategui², G Pentón. CIGB; ¹IFAL y ²UCM, La Habana, Cuba. *majel.cervantes@cigb.edu.cu

Introducción. La esclerosis múltiple (EM) y la neuromielitis óptica (NMO) son enfermedades desmielinizantes (ED) de naturaleza autoinmune del Sistema Nervioso Central que difieren en su mecanismo patogénico y curso clínico. **Objetivos.** Comparar parámetros moleculares, involucrados en la patogénesis de ambas ED al estudiar, los niveles séricos de citoquinas, quimiocinas, metaloproteinasas/inhibidores y marcadores de estrés oxidativo. Identificar marcadores moleculares con valor predictivo de la evolución clínica de los pacientes. Estudiar eventos moleculares involucrados en el mecanismo de acción de los IFNs tipo I en EM. **Resultados.** Se detectaron niveles séricos extremadamente bajos de TNF α en pacientes con NMO, una reducción de IL-10, característica del desbalance efector-regulador en enfermedades autoinmunes y un estrés oxidativo marcado en ambas ED. Se identificó una variable molecular, el inhibidor de metaloproteinasas 9, con valor predictivo de una variable clínica en pacientes con NMO y se demostró que el mecanismo de acción de los IFNs tipo I en EM involucra la inducción de células T reguladoras. **Conclusiones.** Nuestro estudio aporta las primeras evidencias del papel neuroprotector del TNF α en NMO y constituye el primer reporte de la caracterización molecular de marcadores de estrés oxidativo en esta enfermedad. Por otra parte, sugiere elementos del mecanismo de acción de los IFNs tipo I en EM.

I-15 Patrones de respuesta de síntesis intratecal de inmunoglobulinas en la meningoencefalitis por *Streptococcus pneumoniae*. R Bu-Coifu*, AJ Dorta, B Padila, MO Farri¹, M de los A Céspedes¹. LABCEL; ¹Hosp. Pediátrico de San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba. *raisabu@infomed.sld.cu

Introducción. Después de exitosas campañas de vacunación contra *N. meningitidis* y *Haemophilus influenzae* hubo un aumento de casos de meningoencefalitis por *Streptococcus pneumoniae*. **Objetivos.** Describir las características clínicas,

los hallazgos de laboratorio y complicaciones encontradas a un grupo de pacientes que sufrieron de esta enfermedad entre 1993 y 2006 y evaluar el estado de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo (LCR) y el patrón de respuesta de síntesis intratecal de inmunoglobulinas a través del Reibergrama se estudiaron 12 niños con meningoencefalitis por *S. pneumoniae* que ingresaron en el Hospital Pediátrico de San Miguel del Padrón en el periodo de 1993-2006. **Resultados.** Se dosificaron albúmina, IgA, IgM e IgG y sus subclases por inmunodifusión radial en suero y líquido cefalorraquídeo. La edad más frecuente resultó la menor de un año. Las complicaciones más frecuentes fueron: shock séptico y edema cerebral. Hubo tres pacientes fallecidos. Los patrones de las tres clases mayores de inmunoglobulinas aparecen en el 33% del total. Los dos patrones de subclases de IgG más IgM tienen en común la disfunción de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo. **Conclusiones.** Los pacientes que sufren de la enfermedad lo hacen de una forma extremadamente grave. Hasta tanto no contemos con una vacuna efectiva contra este microorganismo existirá este factor de riesgo como lo ha reportado la OMS/OPS. Los patrones de síntesis intratecal podrían ser elementos a ser tomados en cuenta para auxiliar al médico y realizar diagnósticos diferenciales.

I-16 Respuesta inmune intratecal en un caso por infección del virus del Nilo Occidental. M Pupo*, Y Vázquez, AJ Dorta¹, M González¹, E Noris¹, B Padilla², R Bu-Coifu¹. IPK; ¹LABCEL. *mpupo@ipk.sld.cu

Introducción. El virus del Nilo Occidental es una enfermedad que afecta el Sistema Nervioso Central (SNC) y hasta el momento los mecanismos específicos de entrada del VNO al SNC no se conocen. La síntesis intratecal de inmunoglobulinas durante el curso de una variedad de enfermedades que afectan el SNC, principalmente originadas por infiltraciones perivasculares de linfocitos B localmente maduros, los cuales pueden estar asociados a la enfermedad del SNC. El incremento patológico de proteínas, por ejemplo IgG en LCR, puede ocurrir debido a la disfunción de la barrera sangre-LCR o a la biosíntesis dentro del SNC. Desde hace algún tiempo se ha generalizado la propuesta de Reiber en el estudio de la síntesis intratecal de inmunoglobulinas, el reibergrama. El reibergrama puede ayudar a evaluar la síntesis intratecal, la barrera sangre-LCR y el patrón de respuesta de síntesis para las enfermedades neurológicas que pueden ser típicas en algunas entidades sin suponer cambios morfológicos en la ruptura de la barrera. **Objetivo.** Determinar la presencia de inmunoglobulinas intratecales específicas al VNO como confirmación de la causa de afección neurológica de un caso humano de infección por VNO. **Resultado.** Como resultado del estudio se reporta por primera vez la síntesis intratecal de 3 clases de inmunoglobulinas IgM, IgA e IgG en un paciente de VNO usando las formulas de Reiber. **Conclusión.** Los altos valores del índice de anticuerpos mostrado por este paciente, revelaron claramente el hecho de que el proceso inflamatorio en el SNC era causado por el VNO.

I-17 Reibergrama para la síntesis intratecal de C4 en pacientes con meningitis eosinofílica causada por *Angiostrongylus cantonensis*. B Padilla*, AJ Dorta, L Martini Robles¹, R Bu-Coifu, ME Magraner. LABCEL, La Habana. Cuba; ¹Inst Nacional de Higiene, Guayaquil, Ecuador. *barbara.padilla@infomed.sld.cu

Introducción. *Angiostrongylus cantonensis* constituye una zoonosis que produce en el humano la meningitis eosinofílica. Durante la infección con este parásito es de interés conocer si el sistema de complemento puede activarse por la vía clásica o la vía de las lectinas. Esta información es importante para el diagnóstico clínico porque puede auxiliar en la detección de inmunodeficiencia causada por el sistema de complemento e identificar qué ocurre en la respuesta inmune del niño y del adulto contra la larva y durante la síntesis y activación del complemento. **Objetivo.** Determinar si el sistema de complemento puede ser activado por la vía clásica o de las lectinas en pacientes con meningitis eosinofílica y si puede estar involucrado en la eliminación natural de la larva de tercer estadio cuando estas alcanzan el sistema nervioso central. **Resultados.** Se obtuvieron muestras de suero y líquido cefalorraquídeo de 20 pacientes que incluyó niños y adultos. Se cuantificó los niveles de C4 y albúmina respectivamente. Se observó que el 60% de ellos mostraron síntesis intratecal de este componente. Seis, exhibieron alta fracción intratecal > 80%, tres tuvieron una fracción > 60%, y otros tres > 30%. Ocho de estos no mostraron valores detectables de C4 en el LCR y ocho presentaron disfunción de la barrera sangre-LCR. **Conclusiones.** Estos resultados nos permiten afirmar que pudo haber ocurrido un proceso de hipersensibilidad del tipo II fundamentalmente a partir de la síntesis de IgG que ha activado el sistema de complemento como parte de la citotoxicidad contra la larva del parásito.

I.18 Expresión y purificación preliminar de una proteína quimérica constituida por ovalbúmina y una forma truncada de la exotoxina A, PE40, de *Pseudomonas*, dirigida contra linfocitos B de memoria específicos. Y de la Patria Hervis^{1*}, Y Cruz¹, A del Monte¹, A Valle¹, Y Álvarez¹, L Canet¹, Y Fernández², A Navarro³, ME Alonso¹, R Fando⁴, LE Fernández², M Tejuca¹, C Álvarez¹, ME Lanio¹. ¹Centro de Estudios de Proteínas, Facultad de Biología, UH, Cuba; ²CIM, La Habana, Cuba; ³CIEB, La Habana, Cuba; ⁴CENIC, La Habana, Cuba. *patria@fbio.uh.cu

Introducción. La activación de los linfocitos B de memoria puede resultar en una respuesta de anticuerpos no deseable, como ocurre en las enfermedades autoinmunes, de hipersensibilidad y otras como el dengue. Algunos tratamientos utilizados se basan en la depleción de la población de células B, afectándose el sistema inmune en general, por lo que sería conveniente eliminar de forma selectiva los clones de células B de memoria. Los linfocitos B de memoria poseen una inmunoglobulina de membrana con mayor afinidad por los determinantes antigénicos contra los cuales la célula es capaz de producir anticuerpos. Esta inmunoglobulina provee un blanco terapéutico potencial para eliminar selectivamente una subpoblación de células B, mediante el uso de un conjugado antígeno-toxina. **Objetivo.** Demostrar si es posible eliminar linfocitos B de memoria específicos contra ovalbúmina (Ova). **Resultados.** Se expresó la proteína de fusión Ova-PE40 marcada con 6 His (HisOvaPE40) y se desarrolló un procedimiento preliminar para su purificación. PE40 es una forma truncada de 40 kDa de la exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa*, que contiene solo el dominio de translocación y catalítico. PE40 es capaz de eliminar células eucariotas al inhibir la síntesis de proteína a través de la transferencia del fragmento ADP-ribosilo del NAD⁺ al factor de elongación 2 (EF-2) en el citosol. **Conclusión.** El método empleado para purificar la proteína de fusión HisOvaPE40 no resultó ser totalmente efectivo debido a la poca exposición de las His.

Sesión II. InmunoClínica e InmunoFarmacología

Tribunal. Camilo Rodríguez, Nancy Pavón, Elizabeth González, Vicente Hernández, Ariel Jauma y Daymé Hernández

II-1 Evaluación del índice opsonofagocítico asociado a complicaciones infecciosas en el paciente quemado.

A del C Sin Mayor*, M Rodríguez, Z Casamayor, M Díaz. Laboratorio de Inmunología. HmC Luís Díaz Soto, La Habana, Cuba. ismmds@infomed.sld.cu

Introducción. Las quemaduras representan uno de los traumas más graves que puede afectar a un individuo; destruyen la primera y más importante barrera defensiva del organismo: la piel, abriendo paso a la colonización de gérmenes. **Objetivos:** Evaluar el estado del índice opsonofagocítico asociado al desarrollo de complicaciones infecciosas en el paciente quemado. **Resultados.** Se demuestra una depresión significativa en la capacidad fagocítica de los polimorfonucleares neutrófilos en los pacientes críticos desde las primeras 24 horas de ocurrido el trauma térmico, que se extendió hasta los 21 días de evolución. El número de microorganismos identificados en los estudios microbiológicos y el desarrollo de infección sistémica fue mayor en este mismo grupo de pacientes. **Conclusión.** El retardo del mecanismo opsonofagocítico y la aparición de complicaciones infecciosas sistémicas en los pacientes quemados son directamente proporcionales, elementos que contribuyen significativamente al incremento de la morbilidad en este tipo de lesionado.

II-2 Efecto *in vitro* de una solución de *Passiflora incarnata* L. sobre la respuesta de linfocitos humanos de donantes sanos y enfermos con inmunodeficiencia celular.

LO del Valle*, C Macías, BB Socarrás, V Marsán, M Sánchez, L Palma, RM Lam, JC Merlín, P Hernández, JM Ballester. IHI, La Habana, Cuba. *l.valle@hemato.sld.cu

Introducción. Los productos naturales actúan de la misma manera que los fármacos convencionales, es decir, por los principios activos presentes en su composición. La mayoría de los grupos de fármacos se descubrieron y se desarrollaron a partir del Reino Plantae, aunque ahora se produzcan sintéticamente. La *Passiflora incarnata* L. (PI) más conocida como pasiflora, es una especie de la familia de las Pasifloráceas. Entre los componentes de la planta se encuentran fenoles, aminos, azúcares, oligoelementos, cianocarbina, alcaloides y flavonoides. Se le han reportado también la presencia de ácido hidrocianico, cítrico, málico, pantoténico, y tánico. **Objetivo.** Este trabajo se realizó para determinar el efecto *in vitro* de un extracto fluido de PI sobre los linfocitos y neutrófilos humanos de donantes sanos y de enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular. **Resultados.** Al comparar los niveles de linfocitos T, mediante el estudio de la formación de rosetas espontánea y activa, así como la expresión de los marcadores de membrana CD2 y CD3 en linfocitos estimulados con PI y sin esta, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas de los donantes ni en

los enfermos con diagnóstico de inmunodeficiencia celular. Similares resultados fueron hallados con la prueba de función fagocítica de los neutrófilos de los donantes y enfermos que se incubaron sin PI y con esta. **Conclusiones.** No se demostró acción inmunomoduladora *in vitro* con la PI en individuos sanos e inmunodeficientes. Se recomienda profundizar en la acción inmunomoduladora de este producto mediante estudios preclínicos y clínicos *in vitro* que permitan el estudio de otras moléculas de activación y la proliferación linfocitaria.

II-3 Expresión fenotípica de las moléculas CD5 y CD6 en la leucemia linfocítica crónica B-CD5+. BB Socarrás*, LO del Valle, C Macías, V Marsán, M Sánchez, RM Lam, R Alonso¹, E Montero¹, P Hernández. IHI; ¹CIM, La Habana, Cuba. *b.socarras@hemato.sld.cu

Introducción. La leucemia linfocítica crónica (LLC) es una enfermedad heterogénea con determinadas características citogenéticas, moleculares e inmunofenotípicas, y se ha observado que más del 95% de los pacientes con LLC tienen el fenotipo B (LLC-B) y solo entre el 2-5% de los casos se ha reportado el fenotipo T (LLC-T). La LLC-B tiene un patrón inmunofenotípico definido por expresión positiva de los antígenos específicos de células B, CD19, CD20, CD22; fuerte positividad del antígeno T CD5, aunque exista ausencia de otros marcadores T; expresan sólo una cadena ligera de las inmunoglobulinas (κ o λ) y una baja densidad de inmunoglobulinas de superficie. Todos estos elementos son necesarios para un diagnóstico preciso de la LLC y su diferenciación de otros síndromes linfoproliferativos crónicos. Diferentes investigaciones han demostrado que existe homología estructural y en el patrón de expresión de las moléculas CD5 y CD6 y ambas tienen función coestimuladora debido a su capacidad de incrementar los estímulos proliferativos inducidos por el receptor de células T (TCR). **Objetivo.** Evaluar la expresión de la molécula CD6 mediante el uso del anticuerpo monoclonal anti-CD6 (T1), de producción nacional en pacientes con LLC-CD5+ **Resultados.** Se demostró homología en la expresión fenotípica de las moléculas CD5 y CD6 en los enfermos con LLC-B-CD5+. **Conclusiones.** Estos resultados permiten sugerir que la molécula CD6 es un biomarcador útil en la caracterización inmunofenotípica de la LLC y constituye un nuevo potencial terapéutico para esta enfermedad.

II-4 El péptido CIGB814 induce células T reguladoras en pacientes con artritis reumatoide y suprime la respuesta patogénica en el modelo animal de artritis inducida por adyuvante. A Barberá*, N. Lorenzo, A. Vázquez, H Garay, O Reyes, MV Hernández¹, AM Torres¹, I Hernández¹, R Gil¹, G. Padrón, Domínguez. CIGB; ¹INR, La Habana, Cuba. *ariana.barbera@cigb.edu .cu

Introducción. La inducción de tolerancia con autoantígenos *in vivo* es un proceso complejo que involucra diversos mecanismos, tales como la inducción de células T reguladoras (Treg), la supresión de células T y B, y los cambios en los perfiles de citoquinas y quimioquinas. Este enfoque representa una alternativa atractiva para el tratamiento de la artritis reumatoide (AR), ya que podría eliminar las células T patógenas con especificidad, sin afectar a otras células T no relacionadas. **Objetivos.** Demostrar que el péptido CIGB814 es capaz de inducir células T reguladoras en ensayos *ex vivo* en pacientes con AR y evaluar su efecto en el modelo animal de artritis inducida por adyuvante (AA). **Resultados.** El péptido CIGB814 incrementa significativamente la frecuencia de las células Treg con fenotipo CD4+CD25+Foxp3+ en pacientes con AR pero no en los donantes sanos. Además este péptido induce la división de las células Treg con fenotipo CD4+Foxp3+ en los nódulos linfáticos y el bazo de ratones Balb/c. Por otra parte, en el modelo animal de AA el péptido CIGB814 redujo significativamente el desarrollo de la artritis, sin presentar ningún daño histológico en las articulaciones, asociado a una disminución de los niveles de TNF- α . **Conclusión.** Estos resultados sugieren que el péptido CIGB814 al ser administrado a los pacientes con AR podría inducir clones de células Treg capaces de controlar las células T patógenas responsables de la reacción inflamatoria en los pacientes.

II-5 Evaluación de antagonistas de IL-15 en la línea de leucemia linfocítica humana, Kit 225. Y Rodríguez*, H Gerónimo, G García, GE Guillén, C Arrieta, A Santos. CIGB, La Habana, Cuba. *yunier.rodriguez@cigb.edu.cu

Introducción. La IL-15 tiene un importante rol en el desarrollo de varias poblaciones de linfocitos (NK, NKT, T $\gamma\delta$ y células T CD8+ con fenotipo de memoria), así como en la maduración de macrófagos y células dendríticas. Por esta razón se ha propuesto como una aplicación potencial el uso de esta citocina en el tratamiento de algunos tipos de cáncer. En algunos tipos de leucemia puede actuar como un factor de crecimiento. Nuestro grupo obtuvo la IL-15 humana recombinante en el hospedero *E. coli* y ha desarrollado dos estrategias de inhibición de su función biológica: una vacuna anticitocina y un péptido antagonista que se une a la subunidad alfa del receptor. **Objetivo.** Establecer las condiciones experimentales para la evaluación de péptidos antagonistas de la IL-15 y sueros de animales inmunizados en la línea celular humana Kit

225 proveniente de leucemia linfocítica crónica, que es dependiente de la citocina para su proliferación. **Resultados.** Se establecieron las condiciones experimentales para la evaluación del efecto de antagonistas de IL-15 sobre la proliferación celular de las Kit 225, 3,8 ng de IL-15, 20 UI de IL-2 y 10×10^3 células/pocillo y se estimaron los valores de IC_{50} para los péptidos evaluados, que demostraron una inhibición de la proliferación celular dosis-dependiente. Los sueros del grupo inmunizado con IL-15 en alúmina neutralizan la actividad de la citocina. **Conclusión.** En las condiciones experimentales establecidas, las moléculas antagonistas de IL-15 evaluadas inhiben la proliferación de la línea de leucemia Kit 225 en presencia de IL-15.

II-6 Respuesta celular inducida por el péptido E18-12 y las variantes tipo APL en ensayos ex vivo en pacientes con artritis reumatoide y su efecto terapéutico en el modelo animal de artritis inducida por adyuvante.

N Lorenzo*, A Barberá, H Garay, O Reyes, M López, AM Torres¹, MV Hernández¹, I Hernández¹, G Padrón, MC Domínguez. CIGB; ¹INR, La Habana, Cuba. *noraylis.lorenzo@cigb.edu.cu

Introducción. La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune sistémica mediada por célula T que afecta el 1% de la población mundial. La proteína de estrés térmico de 60 KDa (Hsp60) es un autoantígeno involucrado en la patogénesis de esta enfermedad. En esta proteína se identificó un péptido que corresponde a un epítipo de células T, denominado E18-12. Previamente, en ensayos ex vivo en pacientes con AR, se evidenció que este péptido incrementaba los niveles de citocinas asociadas a un patrón TH1. El péptido E18-12 fue modificado para obtener un panel de ligandos peptídicos alterado (APLs). **Objetivos.** Evaluar la respuesta celular inducida por los APLs en ensayos ex vivo en pacientes con AR, así como, su efecto terapéutico en el modelo animal de artritis inducida por adyuvante (AA). **Resultados.** Las células mononucleares de sangre periférica de 12 pacientes con AR se estimularon con los péptidos (40 μ g/mL) y se cuantificaron las citocinas TNF- α e IL-10 por ELISA. A diferencia del E18-12, el APL2 induce un incremento significativo en la producción de IL-10 en todos los pacientes analizados, independiente de las moléculas HLA clase II que presenten los mismos. Además, en el modelo animal de AA el tratamiento con el APL2 inhibe eficientemente la progresión de la artritis por una disminución significativa de los niveles de TNF- α . **Conclusión.** Estos resultados sugieren el uso potencial del APL2 como candidato terapéutico para el tratamiento de la AR y otras enfermedades autoinmunes donde la Hsp60 constituya un autoantígeno importante.

II-7 Síndrome de DiGeorge (aplasia o hipoplasia tímica). Presentación y revisión de la literatura. M Borrero*.

Hosp. Luis Milanés, Bayamo, Granma, Cuba. *caryb@grannet.grm.sld.cu

Introducción. El DiGeorge es un síndrome congénito caracterizado por un espectro de malformaciones incluyendo la ausencia del timo y las glándulas paratiroides provocando inmunodeficiencia de células T e hipocalcemia, unido a defectos en el tracto eferente del corazón y anomalías craneofaciales. La mayoría de los casos resultan de una delección del cromosoma 21q11.2 o una mutación en el gen TBX1. Ocurre en uno de cada 3000 a 4000 nacidos vivos y es de tipo autosómico dominante, la mayoría de los casos son infrecuentes o esporádicos; en aproximadamente el 10% de las familias, esta supresión es hereditaria y algunos miembros están afectados corriendo el riesgo de transmitirla a sus hijos. En el Hospital Pediátrico de Bayamo cada año desde el 2008 se ha diagnosticado un caso, incidiendo en la mortalidad infantil de la provincia. **Objetivo.** Establecer puntos de concordancia entre las características de presencia frecuente y muy sospechosas de inmunodeficiencias primarias que pueden estar asociadas a la aparición del síndrome. **Resultados.** Se establecieron puntos de concordancia según la premisa asociadas al Di George tales como: otras anomalías genéticas, prematuridad, insuficiente ganancia de peso, malnutrición, anemia e infecciones recurrentes resistentes al tratamiento, que permitieron realizar el diagnóstico de la patología, contribuir al conocimiento y ganar la experiencia para el tratamiento posterior, traduciéndose en la supervivencia de futuros pacientes. **Conclusiones.** Para la provincia Granma ha aumentado la frecuencia de aparición de la enfermedad en los lactantes unida directamente a las características de presencia frecuente y muy sospechosas de inmunodeficiencias primarias.

II-8 Obtención de sueros hiperinmunes antitoxina tetánica utilizando bajos volúmenes de inmunógeno y protocolos de inmunización multisitios. A Miranda*, R Sánchez, O Mulet¹, W Góngora, D Cobos, Y Goya, O Pérez². Cibho;

¹Lab. Prov. de Veterinaria, Holguín e Instituto Finlay, La Habana, Cuba. *antonio@cibho.hlg.sld.cu

Introducción. El tétanos es una enfermedad causada por una neurotoxina producida por el *Clostridium Tetani*. Su control es una estrategia de los programas de vacunación que desarrolla la OPS para su erradicación. Para establecer la actividad de las anatoxinas se utilizan patrones internacionales, sin embargo, no están disponibles para uso rutinario en la producción y control de las vacunas DTP, por su elevado costo. Los preparados de inmunoglobulinas equinas se

utilizan como patrones de referencias en el control del toxoide. **Objetivo.** Producir una antitoxina con características similares a las comerciales en equinos, según protocolo de inmunización estandarizado en nuestros laboratorios. **Resultados.** Para la obtención de los sueros hiperinmunes los animales fueron inmunizados aplicando diferentes protocolos, utilizando como adyuvante una EMI por vía subcutánea multisitio con volúmenes que no excedieron los 8 mL de la mezcla inmunogénica. La respuesta de anticuerpos fue analizada por la prueba de Floculación de Ramón. Los títulos de anticuerpos aumentaron rápidamente y alcanzaron una meseta alrededor de las 6 semanas para unos grupos y a las 10 semanas para otros donde los títulos de los anticuerpos fueron significativamente más altos con actividad de 2000 UELf/mL. **Conclusión.** Los títulos de antitoxina variaron significativamente de un esquema a otro, según la variación de los parámetros estudiados, donde la respuesta inmune depende principalmente de la dosis antigénica sobre la cinética de producción de antitoxina tetánica. Es evidente que la concentración de anticuerpos antitoxina aumenta con el paso del tiempo y con la repetición de los estímulos antigénicos.

II-9 Caracterización del componente monoclonal en pacientes con mieloma múltiple en la provincia de Las Tunas. OL Pupo*, M Vázquez¹. Hosp. "Ernesto Guevara de la Serna"; ¹UCM, Las Tunas, Cuba. *lina@cucalambe.ltu.sld.cu

Introducción. El mieloma múltiple es una neoplasia de células plasmáticas que representa el 10% de las enfermedades hematológicas malignas. La mayoría de los pacientes presentan síntomas, signos y trastornos de laboratorio sugestivos de enfermedad activa, incluyendo lesiones osteolíticas activas, hipercalcemia, anemia y fallo renal. Para el diagnóstico de esta enfermedad hay que tener en cuenta las manifestaciones clínicas, estudios radiológicos, pruebas especiales como citología celular y exámenes de laboratorio como la electroforesis de proteína en suero y orina, inmunoelectroforesis, cuantificación de inmunoglobulinas y proteína de Bence-Jones. **Objetivo.** Evaluar las características de las variables inmunológicas mediante la determinación de inmunoglobulinas, proteínas totales y electroforesis de proteínas en suero y orina en pacientes remitidos de la consulta de Hematología del hospital "Ernesto Guevara de la Serna" de Las Tunas, con el diagnóstico de mieloma múltiple. **Resultados.** La clase IgG fue la predominante en los 99 casos estudiados (73,7%), seguido de la IgA (16,1%) y de cadenas ligeras (9%). Se encontró un caso de macroglobulinemia de Waldenström. **Conclusión.** En correspondencia con lo reportado en la literatura, en la provincia de Las Tunas el isotipo más frecuente en pacientes afectados por mieloma múltiple es de clase IgG.

II-10 Evaluación de variables inmunohematológicas en trabajadores de un hospital Clínico Quirúrgico Provincial. M García*, I Romero, JA Pinto. Hosp. José R López Tabrane, Matanzas, Cuba. *maniolag.mtz@infomed.sld.cu

Introducción. Los trabajadores de la salud están sometidos a múltiples y diversos riesgos de tipo físico, químico y biológico, factores humanos y sociales, que pueden dar lugar a diferentes tipos de daños en el organismo, que pueden afectar, entre otros, los elementos de la respuesta inmune. **Objetivo.** Identificar el comportamiento de algunas variables inmunohematológicas en trabajadores de áreas de riesgo en un centro de atención secundaria en Matanzas. **Resultados.** Se llevó a cabo un trabajo prospectivo con la realización de determinaciones inmunohematológicas a personas aparentemente sanas trabajadoras de áreas de riesgo diverso; las que se repitieron al año, y todos los casos fueron atendidos en consulta para identificar posibles características clínicas presentes y potencialmente relacionadas con trastornos de la respuesta inmunológica. Los hallazgos más repetidos fueron la tendencia a la leucopenia a expensas de la serie granulocítica y el aumento de los niveles de conteo de reticulocitos, sobre todo en trabajadores de rayos X y salón de operaciones. No se encontraron variaciones significativas en los resultados de laboratorio en los técnicos de radioterapia de la unidad oncológica, asimismo los niveles de proteínas totales y globulinas plasmáticas, en general aparecieron dentro de límites normales pero cercanos al límite inferior, los síntomas más nombrados fueron cansancio fácil y dolores articulares y las infecciones más repetidas las respiratorias altas. **Conclusión.** Es necesario continuar el estudio e introducir otros elementos de evaluación inmunológica para diseñar una estrategia de intervención que contribuya al desempeño saludable de los trabajadores de salud.

II-11 Variaciones en las concentraciones de inmunoglobulinas y complemento en diferentes estadios del síndrome séptico. W Quintero*, M del Valle¹, LA Peláez², O Orraca Castillo³, E Pérez¹, S Piñeiro¹. UCM; ¹Hosp. Abel Santamaría Cuadrado; ²Hosp. Pepe Portilla; ³CPHE, Pinar del Río, Cuba. *megwilly07@princesa.pri.sld.cu

Introducción. En los últimos 20 años ha aumentado la incidencia de sepsis a un ritmo del 8,7% anual. Esta es resultado de la respuesta del organismo a la infección y se define por criterios establecidos en consensos internacionales. Tiene varios estadios: sepsis, sepsis grave, shock séptico. **Objetivo.** Describir los niveles de inmunoglobulinas y complemento en diferentes estadios del síndrome séptico. **Resultados.** En los pacientes con sepsis las inmunoglobulinas

mostraron valores elevados: IgA en 93,33% de los casos: [3,9 g/l $\pm$ 0,4 (media $\pm$ DS)], IgG en 80% de los pacientes: (18,0 g/l $\pm$ 1,4), IgM en 96,66%: (2,8 g/l $\pm$ 0,6); en los pacientes con sepsis grave IgA elevadas 90% de los casos (4,2 g/l $\pm$ 0,9), IgG elevadas en 83,33% de los pacientes (16,5 g/l $\pm$ 1,02), IgM disminuidas en 83,33%: (0,32 g/l $\pm$ 0,1); mientras que en el shock séptico mostraron disminución de los valores con relación a los estadios anteriores IgG e IgA en 70% de los pacientes, [(9,12 g/l $\pm$ 2,6) y (0,8 g/l $\pm$ 0,15) respectivamente]; y la IgM en 83,33% (0,30 g/l $\pm$ 0,13). C3 se mantuvo elevado en la sepsis en 22 pacientes [(73,33%) (1,87 g/l $\pm$ 0,37)]; y disminuido en la sepsis grave en 63,33% pacientes (0,60 g/l $\pm$ 0,09) y en el shock séptico en el 80% (0,57 g/l $\pm$ 0,07). **Conclusión.** Las distintas etapas del síndrome séptico muestran características diferentes en los valores de inmunoglobulinas y el complemento, con tendencia a su disminución en la medida que la gravedad es mayor.

II-12 Valor del uso de antibióticoterapia combinada, tratamiento a convivientes e inmunoterapia en las furunculosis. LA Peláez*, W Quintero¹, M del Valle², O Orraca³. Hosp. "Pepe Portilla", ¹UCM; ²Hosp. "Abel Santamaría Cuadrado"; CPHE, Pinar del Río, Cuba. *megwilly07@princesa.pri.sld.cu

Introducción. El término forunculosis se utiliza para denominar la aparición de forúnculos múltiples (al unísono o sucesivos). Los reportes de infecciones piógenas se han incrementado en los últimos años tomando gran importancia en el mundo. **Objetivo.** Describir clínica y epidemiológicamente a los pacientes con furunculosis en la consulta de inmunología y evaluar el uso de antibióticos combinados, tratamiento a convivientes e inmunoterapia en el tratamiento de las furunculosis recidivantes. **Resultados.** La forunculosis predominó a mayores edades, identificándose al *Staphylococcus aureus* en el 77,96%. Se constató: el uso en la comunidad de múltiples antibióticos a los cuales el estafilococo es resistente; el sulfaprim y cloranfenicol, con poder antiestafilocócico demostrado, se emplearon solo en 10,11%. La presencia de convivientes con exudados nasofaríngeos positivos se verificó en el 83,09% de los pacientes y con historial de abscesos previos en el 19,10%. La antibióticoterapia combinada tuvo un 68,96% de recidivas, mientras que la antibióticoterapia combinada y el abordaje de los convivientes un 30%; por su parte el uso de antibióticoterapia combinada, tratamiento de convivientes, inmunoterapia (factor de transferencia y/o inmunoglobulina humana al 10%) y vitaminoterapia solo presentó un 10% de recidivas hasta el año de evolución. **Conclusiones.** El abordaje terapéutico de los convivientes es importante en el tratamiento de la forunculosis. Un tratamiento empírico predispone a las recidivas. Se hace necesario el uso de antibióticos específicos combinados, el abordaje terapéutico de los convivientes y el uso de inmunomoduladores.

II-13 Caracterización de donantes de plasma humano hiperimmune anti-hepatitis B en el Banco de Sangre de Santiago de Cuba. NA Pérez*, B Cuevas. Banco de Sangre Santiago de Cuba. *udocente.bsp@medired.scu.sld.cu

Introducción. En 1995 se introduce en nuestro centro las máquinas automatizadas para la obtención de plasma humano hiperimmune anti-hepatitis B como materia prima para la producción de inmunoglobulinas específicas que cobran valor en el mercado internacional, además del impacto social que representan al mejorar la calidad de vida y aliviar enfermedades producidas por este virus. Para ello se requiere de donantes respondedores inmunológicamente, con elevados niveles de anticuerpos específicos con un mínimo de inmunizaciones para este fin, por lo que nos trazamos como **Objetivo.** Caracterizar los donantes de plasma hiperimmune anti-HB de nuestra institución. **Resultados.** Se realizó un estudio retrospectivo utilizando la historia clínica de los donantes, agrupando los mismos de acuerdo con el número de inmunizaciones administradas, productividad, donaciones realizadas y niveles de anticuerpos para evaluar su respuesta inmunológica. El 43,1% de estos donantes no recibieron ninguna inmunización en el periodo estudiado. El 29,3% de las donaciones realizadas fueron efectuadas por donantes que mantuvieron siempre títulos por encima de 10.000 UI, aportando entre 16 y 26 donaciones en el año para un 24,1%. La mayoría de ellos son regulares respondedores; el 29,5% y 20,6% son muy buenos o buenos respondedores respectivamente, hemos logrado mantener buena calidad de la materia prima y los volúmenes establecidos de plasma hiperimmune a la industria farmacéutica. **Conclusión.** Fueron caracterizados los donantes de plasma humano hiperimmune anti-HB. La mayoría de ellos no recibieron ninguna inmunización y fueron clasificados como muy buenos, buenos y regulares respondedores.

II-14 Evaluación de la seroprotección contra el virus de la hepatitis B en trabajadores de la salud. CA. Suárez*, O Figueredo, F Soterías. Banco de Sangre Santiago de Cuba. *udocente.bsp@medired.scu.sld.cu

Introducción. La hepatitis B es un problema de salud en el mundo, transmitiéndose fundamentalmente por vía parenteral. Los trabajadores de la salud, en especial los que trabajan con un volumen importante de sangre y sus componentes, como los que laboran en los bancos de sangre, constituyen un grupo de alto riesgo de contraer dicha enfermedad.

Aunque la vacunación proporciona una respuesta inmune protectora, existen diversos factores asociados a falta o disminución de dicha respuesta poniendo en peligro la salud. **Objetivo.** Evaluar la seroprotección contra el virus de la hepatitis B en trabajadores del banco de sangre y tomar las medidas de protección en aquellos trabajadores que lo requieran. **Resultados.** Se realizó un estudio descriptivo– retrospectivo en el Banco de Sangre Provincial “Renato Guitart Rosell” de Santiago de Cuba, donde se evaluó la seroprotección contra el virus de la hepatitis B en 158 trabajadores. Para la evaluación de la seroprotección se cuantificó el título de anticuerpos anti-HBs, empleando la técnica Ultramicroelisa de la tecnología SUMA. De los 158 trabajadores investigados, 120 para un 75,9% presentaron protección. Se detectaron 88 trabajadores con altos títulos de anticuerpos anti-HBs, por encima de 2000UI/L para un 55,1% y con una persistencia de aproximadamente 13 años; 38 trabajadores para un 24% no presentaron protección, por lo que requieren de una o más dosis de vacunación para el restablecimiento de su inmunidad. **Conclusión.** El estado inmune de la mayoría de los trabajadores (75,9%) es muy bueno y el resto requiere de protección.

II-15 Comportamiento del proteinograma sérico y la cuantificación de inmunoglobulinas séricas en la forunculosis por *Staphylococcus aureus*. AM Díaz*, VJ Hernández, T Gómez, L Becker, C Rodríguez¹, D Fernández. UNIB-UCM ; ¹SUM Cifuentes, UCM, Villa Clara, Cuba. *vicentehm@ucm.vcl.sld.cu

Introducción. La indicación de exámenes sin criterios clínicos en una patología causa gastos económicos innecesarios y planteamientos diagnósticos erróneos. **Objetivos.** Describir el comportamiento del proteinograma sérico y la cuantificación de las inmunoglobulinas séricas en 70 pacientes infectados por *Staphylococcus aureus*, que acudieron a la consulta de Inmunología, del policlínico “Chiqui Gómez Lubián”, durante septiembre-julio del 2009. **Resultados.** Se determinaron las fracciones proteicas séricas por elusión, y se cuantificaron las tres principales inmunoglobulinas séricas por Mancinil. Los datos obtenidos fueron procesados desde una base en SPSS, versión 15, se formularon los descriptivos, se contrastaron las variables bajo la prueba de Chi cuadrado, con una significación de confianza del 95%. Predominaron los pacientes con el color de la piel blanca sobre los no blancos, según edad y sexo la muestra aleatoria fue semejante. En la electroforesis de proteínas se obtuvieron resultados normales para las proteínas totales y la fracción gamma. Para la albúmina, fracción alfa 1, alfa 2 y beta globulina se obtuvieron valores bajos, por encima del 95% válido. Todas las inmunoglobulinas resultaron normales o altas, según los intervalos de referencia para cada grupo de edad. Al correlacionar los valores de las inmunoglobulinas con las fracciones de la electroforesis, fue significativo el resultado obtenido entre la IgA y la fracción beta. Del total de pacientes, 23 presentaron la IgA alta con fracción beta baja. **Conclusión.** Ambas técnicas tienen valor en la evaluación de la inmunidad ante esta enfermedad, aunque no con la interpretación rutinaria que se hace de las mismas.

II-16 Angioedema hereditario y embarazo. Presentación de un caso. CR Díaz*, F Quintana, L Salazar. Policlínico Chiqui Gómez y ¹UCM, Villa Clara, Cuba. layst@ucm.vcl.sld.cu

Introducción. El angioedema hereditario es una rara inmunodeficiencia primaria que se hereda con carácter autonómico dominante con penetración incompleta, en la que el déficit o mal funcionamiento del C1 inhibidor, se manifiesta en la presencia de un angioedema, que puede ser hereditario o adquirido. La forma hereditaria constituye el déficit genético más frecuente en el sistema de complemento y ha recibido gran atención por la alta frecuencia de complicaciones que presenta. **Objetivos.** Divulgar la existencia de siete familias portadoras del AEH que se atienden en la consulta multidisciplinaria de alergia o inmunología del policlínico docente “Chiqui Gómez”, y describir uno de los casos más complejos. **Resultados.** Este trabajo aborda el estudio descriptivo de un caso de la enfermedad, en su forma grave y durante el embarazo y pretende divulgar el tratamiento con el cual se obtuvieron resultados satisfactorios, así como la importancia del conocimiento de la enfermedad por el paciente, sus familiares y el médico. Durante el trabajo de parto, el tratamiento consistió en el uso preventivo de BERINET P, 2 bb EV ½ hora antes de la inducción y se repitió a las 72 horas (1 bb 500 mg EV) y tres días después de igual forma. **Conclusiones.** No hubo complicaciones.

II-17 Comportamiento de inmunoglobulinas, proteínas del complemento y fracciones proteicas en niños afectados con faringoamigdalitis infecciosa. D Heredia*, S Torres, D Fernández, AM Díaz. UNIB; UCM Villa Clara, Cuba. *danayhr@ucm.vcl.sld.cu

Introducción. Las vías respiratorias altas constituyen el primer contacto entre los microorganismos patógenos y el individuo, soliendo ser la faringoamigdalitis de causa infecciosa una de las afecciones más comunes durante la infancia. Por lo general estas infecciones se presentan debido a determinados factores de tipo anatómico, unidos a la inmadurez

o fallas en los mecanismos de defensas tanto locales como sistémicas. **Objetivo.** Determinar parámetros inmunológicos en niños afectados con faringoamigdalitis infecciosa que acudieron a las consultas de Otorrinolaringología e Inmunología del municipio de Santa Clara en el período comprendido entre octubre 2009 y marzo de 2010, mediante la cuantificación de los niveles séricos de las inmunoglobulinas A, G y M, las proteínas C3 y C4 del sistema del complemento y las concentraciones de las fracciones proteicas. **Resultados.** Disminución significativa ($p < 0,01$) de IgA e IgG y las proteínas C3 del Complemento. Las proteínas totales y las fracciones beta y gamma en los niños con faringoamigdalitis también se encontraron disminuidas al ser comparadas con un grupo control sano. **Conclusiones.** Los niños con faringoamigdalitis por lo general presentan un sistema inmune comprometido que los hace más susceptibles a infecciones, demostrándose que la inmunidad humoral y las proteínas del complemento en estos niños están seriamente afectadas.

II-18 Comportamiento de la inmunidad natural y humoral en la hipertensión arterial. L Salazar*, L Bequer¹, T Gómez¹, AD Alfonso¹, M Rodríguez¹. Policlínico Chiqui Gómez y ¹UNIB-UCM, Villa Clara, Cuba. *layst@ucm.vcl.sld.cu

Introducción. Los cambios producidos como respuesta al estrés se dividen en “adaptaciones conductuales o centrales” y “adaptaciones periféricas”. Dentro de estas últimas se encuentran los cambios concernientes al sistema cardiovascular como incremento del pulso y la tensión arterial. Estos cambios no son suficientes, el sistema inmune debe completar la respuesta clásica al estrés para hacerla plenamente adaptativa y garantía de supervivencia. El sistema inmune, participa tanto en la adaptación periférica como en la central, por su cohesión funcional con los sistemas nervioso y endocrino para caracterizar la “respuesta al estrés” en sus manifestaciones esenciales. **Objetivos.** Motivados por la relación conocida entre el estrés, la hipertensión arterial y el sistema inmune, en el presente trabajo estudiamos algunos parámetros inmunológicos en un grupo de pacientes con enfermedad crónica, con el objetivo de evaluar el comportamiento de la inmunidad natural y humoral y su relación con los hábitos tóxicos. **Resultados.** Encontramos que de 33 pacientes hipertensos sometidos a estrés, 16 tuvieron un parámetro alterado en la inmunidad natural y 7 en la humoral. Ninguno de ellos ingería bebidas alcohólicas y 6 coincidieron en que consumían café y cigarro. De estos últimos, 3 presentaron la inmunidad natural afectada y solamente en un caso, correspondiente al sexo femenino, se observó alteración en parámetros tanto de la inmunidad natural como de la humoral. **Conclusión.** En los hipertensos sometidos a estrés se evidencian alteraciones tanto en la inmunidad natural como en la humoral. Existe relación entre los factores de riesgo para la hipertensión arterial con las alteraciones del sistema inmune.

II-19 Cuantificación de la proteína C3 del sistema del complemento en una muestra de la provincia de Villa Clara y su posible asociación con enfermedades crónicas no transmisibles. L Bequer*, T Gómez, OL González, L Salazar, D Heredia¹, V Hernández, F López², C Mendoza³ y M Pérez⁴. UNIB-UCM, ¹Policlínico “Chiqui Gómez”, ²Hosp. “Mariana Grajales”, ³Hospital Psiquiátrico y ⁴Hosp. “Arnaldo Milán Castro”, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. *leticiabm@ucm.vcl.sld.cu

Introducción. El complemento lo conforman más de 25 proteínas plasmáticas y de membrana, de ellas C3 es el punto central de las vías de activación, así como la de mayor concentración en suero. Esta proteína se encuentra fuera del intervalo de referencia en algunas enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) constituyendo una herramienta para el diagnóstico y pronóstico en determinadas patologías. En Cuba se utilizan para su determinación sérica reactivos italianos, por lo que es necesario establecer nuestros propios valores de referencia para la población, tanto adulta como pediátrica, incluyendo el momento del nacimiento. **Objetivos.** Establecer los intervalos de referencia para la proteína C3 en individuos sanos de la población de Villa Clara en sangre del cordón umbilical, niños y adultos y estudiar el comportamiento de dicha proteína en cinco ECNT en adultos. **Resultados.** Se establecieron los valores de referencia de la proteína C3 del sistema del complemento en la población sana de Villa Clara, resultando los recién nacidos los de menor concentración sérica, mientras que los niños mostraron mayor concentración en suero que los adultos. La proteína C3 sérica no se modifica en la hipertensión arterial, alcoholismo crónico y esclerodermia. En la diabetes gestacional el C3 se encuentra por encima de sus valores normales y en el lupus eritematoso sistémico se presenta disminuido respecto al grupo control. **Conclusiones.** Los intervalos de referencia para nuestra población son similares a los reportados por la literatura para las edades estudiadas. En la diabetes gestacional y el LES se muestra hiper e hipocomentemia respectivamente.

II-20 Alelos del sistema antigénico eritrocitario ABO con posibles diferencias en la respuesta inmune en ancianos longevos. M Herrera*, M Vales, MD Noa¹, D Díaz², OL Cruz², I González³. UNIB-UCM, ¹Centro Provincial de Genética, ²Centro Municipal de Genética y ³Universidad Central de las Villas, Villa Clara, Cuba. *manuelahm@ucm.vcl.sld.cu

Introducción. La forma concreta en que los genes realizan el control de la duración de la vida no está todavía clara, pueden existir genes claves determinantes de longevidad o bien la esperanza de vida está determinada por miles de genes que funcionan en mecanismos altamente complejos. Comoquiera que sea, la asociación de fenotipos genéticamente

determinados y longevidad humana, ha sido investigada. **Objetivos.** Explorar la existencia de asociación de alelos específicos del sistema antigénico eritrocitario ABO, en individuos longevos y controles, procedentes de la provincia de Villa Clara. **Resultados.** No se encontraron diferencias significativas en las distribuciones de las frecuencias alélicas para los marcadores antigénicos ABO en ancianos con longevidad satisfactoria respecto a las frecuencias en población general, pero el sentido de los hallazgos es consistente y se mantiene en todos los análisis realizados, referido a una mayor frecuencia del alelo A entre los longevos totales y el estrato de raza negra. La asociación de alelos ABO específicos no fue significativa a la longevidad satisfactoria pero se mantuvo una mayor asociación del alelo A a los longevos que a los controles. Se encontró un comportamiento diferente para los estratos raciales en la muestra de longevos. **Conclusiones.** Se encontró una tendencia donde el alelo ABO (A) presenta mayor asociación a los individuos con longevidad satisfactoria es una evidencia de la necesidad de continuar estudiando las diferencias genéticas en la base de la longevidad humana. Se necesitan por supuesto confirmaciones ulteriores.

II-21 Parámetros inmunológicos en adultos mayores de la provincia de Villa Clara. M Vales*, M Herrera, V Hernández. UNIB-UCM, Villa Clara, Cuba. *mildreyva@ucm.vcl.sld.cu

Introducción. La inmunogerontología o el estudio del sistema inmune del anciano es un área del conocimiento relativamente nueva que, actualmente, contribuye en gran medida a la comprensión del proceso de envejecimiento como un todo. La respuesta inmune es una de las funciones corporales que más profundamente se ve afectada por el envejecimiento. Con la edad, ocurren cambios dentro del sistema inmune que provocan una pérdida de la eficiencia de los mecanismos de defensa. Los linfocitos T son más severamente afectados que los linfocitos B. Esto último se debe principalmente a la involución del timo la cual se completa alrededor de los 60 años de edad. **Objetivo.** Determinar parámetros inmunológicos en pacientes longevos sanos y dementes de la provincia de Villa Clara mediante la cuantificación de los niveles séricos de cinc, las inmunoglobulinas IgG, IgA, IgM, y proteínas de complemento C3 y C4. **Resultados.** Se observó una disminución significativa en los niveles séricos de cinc en la población de longevos sanos estudiados, con un marcado incremento de esta variación en la muestra de longevos con algún tipo de demencia. Para ambos grupos muestrales se evidenció un incremento de IgG y IgA comparados con valores internacionales de referencia, mientras que los niveles de IgM decrecieron aunque no tan significativamente como ocurrió con los niveles de cinc. **Conclusión.** Existen cambios evidentes de los parámetros inmunológicos en la tercera edad, haciéndose más evidentes en longevos con algún tipo de demencia.

II-22 Estudio de variables inmunológicas en sangre del cordón umbilical de recién nacidos sanos. T Gómez*, L Salazar¹, L Bequer, AD Alfonso, M Rodríguez. UNIB-UCM y ¹Policlínico Chiqui Gómez, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. *tahirygh@ucm.vcl.sld.cu

Introducción. Actualmente se conoce que la sangre de la placenta considerada hasta hace muy poco tiempo producto de desecho después del alumbramiento, posee cualidades diferentes de la sangre adulta, incluso de la de recién nacidos, varios días después del parto, por lo que posee características propias. En los últimos años la sangre del cordón umbilical ha sido de interés científico como un medio útil para la determinación de varios parámetros que brindan una información detallada del individuo al momento de su nacimiento. **Objetivos.** Cuantificar las inmunoglobulinas IgG, IgA, IgM y las proteínas del complemento C3 y C4 en sangre del cordón umbilical en recién nacidos sanos de término adecuado para la edad gestacional. **Resultados.** Los valores medios obtenidos son en las inmunoglobulinas IgM, IgG e IgA: 0,1551 g/L, 10,6563 g/L y 0,0509 g/L, respectivamente, y en la proteína C3: 0,88670 g/L y la C4: 0,1215 g/L. **Conclusiones.** Debido a que con estos valores de referencia caracterizamos inmunológicamente a los recién nacidos de término adecuado para la edad gestacional de Villa Clara podemos diagnosticar inmunodeficiencias primarias y tratar precozmente sepsis neonatales, así como trabajar en la prevención y promoción de la salud en nuestra población pediátrica. Los valores medios de cada una de las variables estudiadas son similares a los reportados por la literatura y sirven de referencia para estudios posteriores.

II-23 Patrones de respuesta inmune en las infecciones cutáneas por *Stafilococcus aureus*. VJ Hernández*, C Rodríguez, AD Alfonso, D Luna¹, O Pérez¹, UNIB-UCM de Villa Clara, ¹Centro Provincial de Inmunología de Santi-Spíritus y ²Instituto Finlay, La Habana Cuba. *vicentehm@ucm.vcl.sld.cu

Introducción. Las subclases de IgG predicen el patrón de respuesta Th1-Th2 en el individuo. **Objetivos.** Definir el patrón de respuesta inmune Th1 (celular) o Th2 (humoral) predominante en los enfermos por lesiones cutáneas por *Staphylococcus aureus* que acudieron a la consulta provincial de inmunología de Villa Clara durante el primer semestre del 2006. **Resultados.**

Se determinaron las subclases de IgG, según sexo y edades y se infirió mediante la relación matemática de las DO (Densidades Ópticas) obtenidas en la relación de suclases en el suero de los pacientes, la presencia de uno u otro patrón. Utilizando una base de datos en el programa EPI-6, se realizaron cruzamientos de variables con determinación de frecuencias en por ciento y prueba de Chi cuadrado para demostrar diferencias, con una confianza de 95% y un error de tipo 1 de 0,05 o estadígrafo de Mantel Haenszel. En ambos grupos de edades (menos de 15 y más de 15 años) el patrón predominante fue el Th2 (56,2%), 41 pacientes de una muestra 73. En ambos sexos el patrón predominante fue el Th2, el 61,1% de las mujeres (22 casos) y el 51,4% de los hombres (19 casos). Según la distribución por sexos y edades, el patrón Th2 predominó en las mujeres, tanto en el subgrupo de menos de 15 años como en el de las adultas (57,4% y 75,0%, respectivamente), en los varones menores de 15, predominó el Th1 (65,4%). **conclusión.** Predominó el patrón Th2, excepto en los niños varones.

II-24 Evaluación antiviral *in vitro* de extractos obtenidos de cuatro especies de la flora cubana frente al virus del herpes simple. E Vázquez*, O Fidalgo, M González. Inst. Investigaciones Agropecuarias Jorge Dimitrov, Granma. *etelvez@dimitrov.cu

Introducción. El virus herpes simple (VHS) produce una enfermedad de transmisión sexual. Este puede ser de tipo 1 (bucofacial) y 2 (genital). La evaluación de antivirales se realiza primariamente *in vitro*. **Objetivo.** Evaluar la actividad ant VHS de diferentes extractos etanólicos de plantas *in vitro*. **Resultados.** Se obtuvieron extractos etanólicos de: *Tagetes erecta* L., *Terminalia muelleri* B., *Spondias mombin* L. y *Trichilia hirta* L. y se evaluaron frente a VHS1 y 2. Para los ensayos fue empleada la línea celular Vero, determinando la concentración citotóxica media (CC_{50}), la concentración efectiva media antiviral (CE_{50}) y el índice selectivo. Se emplearon dos métodos de tinción: Azul Negro Naftol (cualitativo) y MTT (cuantitativo). Los resultados demostraron que los extractos provenientes de *T. erecta* (flor y hojas), *T. muelleri* (fruto y flor) y *S. mombin* (corteza de raíz y hojas) no resultaron tóxicos hasta una concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$, mientras que el extracto de *T. hirta* mostró una toxicidad media a una concentración de 732,32 $\mu\text{g/mL}$. Los extractos etanólicos de *T. erecta* (flor), *T. muelleri* (flor y fruto) y *S. mombin* (corteza de raíz) mostraron actividad antiviral frente al VHS 1 y 2 con índices selectivos superiores a 2. *T. erecta* (hojas), *S. mombin* (hojas) y *T. hirta* (hojas) no mostraron actividad antiviral cuando fueron enfrentados a los dos tipos de virus. **Conclusiones.** *T. erecta*, *T. muelleri* y *S. mombin* mostraron actividad antiviral.

II-25 Expresión de genes de citoquinas en tejidos de bazo e hígado de fallecidos por dengue. AB Pérez*, OL Pérez, B Sierra, E Aguirre, A Izquierdo, G García, M Álvarez, L Sarmiento, D Limonta, D Rosario, MG Guzmán. IPK, La Habana, Cuba. *anab@ipk.sld.cu

Introducción. El estudio de marcadores de respuesta inmune en casos graves y fallecidos es de gran relevancia para esclarecer los mecanismos inmunológicos involucrados en el agravamiento de la infección por dengue. **Objetivos.** El objetivo del presente trabajo es investigar la expresión de genes de citoquinas en tejidos de fallecidos por dengue hemorrágico cubanos. **Resultados.** Para ello se realizó la detección de ARNm de citoquinas pro-inflamatorias ($\text{IFN}\gamma$ y $\text{TNF}\alpha$) y citoquinas anti-inflamatorias (IL-10 y $\text{TGF}\beta$) mediante reacción en cadena de la polimerasa con cebadores específicos para estas citoquinas en muestras de tejidos de bazo y de hígado de 10 fallecidos en el curso de la infección por dengue. En la mayoría de los tejidos estudiados se constató la expresión de $\text{IFN}\gamma$ y $\text{TGF}\beta 1$ (100% de los casos), a diferencia de la expresión de $\text{TNF}\alpha$ e IL-10 , que sólo se expresaron en tres de los casos (30%). **Conclusiones.** El presente estudio nos permite inferir el papel del $\text{IFN}\gamma$ en la patogénesis del dengue hemorrágico. Sin embargo, la expresión de $\text{TGF}\beta 1$ pudiera ser una consecuencia de la gravedad y expresarse como resultado de la hipoxia celular causada por el choque hipovolémico en los pacientes. La escasa expresión de $\text{TNF}\alpha$ en los tejidos no excluye su papel como inductor primario de la patogénesis del cuadro grave. Este trabajo constituye el primer reporte del estudio de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias en órganos de fallecidos por dengue, lo cual implica un aporte al conocimiento mundial de la enfermedad.

II-26 Viremia y respuesta de anticuerpos neutralizantes a Dengue 3 en pacientes cubanos adultos, Cuba 2001. M Álvarez*, L Bernardo, I Prado, D Rosario, G García, L Morier, D González, MG Guzmán. IPK, La Habana, Cuba. *mayling@ipk.sld.cu

Introducción. La cinética de la respuesta inmune humoral en dengue ha sido mayormente estudiada en pacientes asiáticos en edad infantil. **Objetivo.** Estudiar la cinética de la viremia y respuesta de anticuerpos neutralizantes en 22

pacientes cubanos adultos de la epidemia cubana del 2001. **Resultados.** Estos pacientes tenían edades comprendidas entre los 21-58 años, de ellos 11 del sexo femenino, 19 clasificados como fiebre del dengue (FD) y tres como fiebre hemorrágica del dengue / síndrome de choque por dengue (FHD/SCD). Tanto la duración como los niveles de viremia fueron mayores en los casos primarios. Una fuerte respuesta anamnésica de anticuerpos neutralizantes fue observada en los casos secundarios al quinto día de la fiebre, siendo mayor en los individuos con FHD. En los casos primarios no se detectaron anticuerpos neutralizantes en los primeros ocho días de la fiebre. Los resultados obtenidos sugieren que en los casos primarios los mecanismos de la respuesta innata fueron capaces de clarificar la infección a pesar de una mayor viremia. **Conclusiones.** En los casos secundarios la neutralización, la CCDA y la activación de macrófagos pudiera estar involucrada en los primeros días de la infección sin embargo niveles elevados de anticuerpos neutralizantes observados en los casos severos pudieran relacionarse con una mayor activación inmune.

II-27 Herpesvirus asociados a infección congénita o síndrome mononucleósico en pacientes con sospecha clínica en Cuba, 2006-2010. C Correa*, PA Martínez, V Kourí, L Pérez, Y Alemán, Y Soto, A Álvarez. IPK, La Habana, Cuba. *consuelocorrea@infomed.sld.cu

Introducción. Los herpesvirus son la causa más frecuente de síndrome mononucleósico (SMN) y dentro de este grupo el citomegalovirus (CMV) ha emergido como la causa más importante de infección congénita (IC). **Objetivo.** Confirmar la etiología herpética en pacientes con sospecha clínica de IC o SMN. **Resultados.** Se realizaron pruebas serológicas específicas para CMV (460,487), EBV (107,445) y/o HSV (123,217) muestras (respectivamente de IC o SMN), provenientes de 465 (IC) y 571 (SMN) pacientes. Las muestras se recibieron en el laboratorio de ETS del IPK, de enero 2006 a octubre 2010. Los pacientes de IC fueron divididos en tres grupos: 138 recién nacidos (RN), 113 gestantes (G) y 218 mujeres con aborto reciente (A). Además, se realizó un PCR anidado múltiple a muestras de suero (59 IC y 25 SMN), saliva (2IC), orina (247 IC, 53S MN), líquido amniótico (18 IC), LCR (2S MN) provenientes de 292 IC y 77 SMN pacientes. Se detectó una alta seroprevalencia de anticuerpos contra CMV (90,6%), HSV (83,7% IC, 61,2% SMN) y EBV (86,9% IC y 94,8% SMN). La infección activa fue detectada por la presencia de IgM anti CMV (14,3% IC, 17,0% SMN), IgM anti HSV (4,8% IC, 15,1% SMN) o IgM anti EBV (12,1% IC, 40,4% SMN). Los RN(IC) se detectaron con mayor frecuencia asociados a IgM anti CMV en comparación con las G+A (OR=2,99, IC1,69-5,30, p=0,000). EBV (SMN) fue la causa más frecuente de infección activa (OR=4,86, CI3,55-6,67, p=0,0000). El genoma viral fue detectado en el 15,1% (IC 78/292) y 16,9% (SMN 13/77) de los casos estudiados. En el 79,5% (IC) de los casos (PCR+) se detectó CMV. **Conclusiones.** Esta investigación constituye el primer estudio cubano de confirmación de la etiología de herpesvirus en casos de infección congénita sintomática o en el síndrome mononucleósico.

II-28 Proteinasa de 62 kDa de *Trichomonas vaginalis*, posible factor de virulencia. HM Hernández*, M Figueredo, I Sariego, AB Álvarez¹, R Marcet, E Vancol¹, A Álvarez¹, MH Álvarez¹, M Savigne¹, M Banquero, G Suárez¹, J Sarracent. IPK y ¹Hospital Materno Eusebio Hernández, La Habana, Cuba. *hilda@ipk.sld.cu

Introducción. *Trichomonas vaginalis* posee altos niveles de actividad proteolítica y se ha reportado para algunas de estas proteinasas su papel en la patogénesis del parásito. Trabajos realizados en el laboratorio han demostrado la importancia de una proteinasa 62 kDa de *T. vaginalis* en la citoadherencia del parásito a células epiteliales y esta proteinasa cuando se administra por vía intranasal con adyuvantes protege a ratones Balb/c contra un reto con *T. vaginalis* por vía intravaginal. **Objetivo.** Profundizar en el conocimiento del papel de esta proteinasa en la infección por *T. vaginalis*. **Resultados.** Mediante un ensayo inmunoenzimático (ELISA) se estudiaron 24 exudados vaginales procedentes de pacientes con trichomonosis (15 sintomáticos y 9 asintomáticos) agrupados según encuesta realizada a los mismos, un total de 56 muestras con otros diagnósticos y 30 muestras negativas de personas que habían resultado negativas al diagnóstico y que no presentaban síntomas y signos. En 100% de las mujeres positivas a trichomonas por cultivo se detectaron niveles de proteinasa en exudados, mientras que en el resto de los grupos estudiados no se detectó la presencia de la proteinasa. En el grupo de pacientes sintomáticas los niveles de proteinasa detectada en los exudados fue significativamente mayor que en el grupo de las asintomáticas. **Conclusiones.** La expresión de esta proteinasa parece ser una característica más estable en pacientes sintomáticas. Este resultado, sumado a la ausencia de diferencias de niveles de anticuerpos a dicha proteinasa en ambos grupos de individuos, sugiere que esta enzima es un factor de virulencia del parásito.

II-29 *Mycobacterium habana* TMC 5135 análisis estructural del ‘factor-cuerda’ y su capacidad de inducir TNF α .

LM Mederos*, EH Montoro, D Martínez¹, A Bernabéu¹, PL Valero¹. IPK, La Habana, Cuba y ¹Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, España. *mederos@ipk.sld.cu

Introducción. A finales de la década de los años 1970 aparecen los primeros estudios donde se demuestra la cepa *Mycobacterium habana* TMC 5135 como nuevo inmunógeno contra dos terribles enfermedades como son la tuberculosis y la lepra. Con anterioridad se había realizado el análisis estructural de algunos componentes lipídicos directamente vinculados a la inmunogenicidad y virulencia en el género *Mycobacterium*; fracciones de ácidos micólicos (AM) y fracciones de los glicopeptidolípidos (GPLs) polares, por lo que era necesario descartar la presencia del “factor cuerda” como molécula antigénica, no presente en todas las especies micobacterianas, compuesta por ácidos micólicos y capaz de inducir la producción de α -TNF. **Objetivos.** Nuestro objetivo fue analizar estructuralmente el factor cuerda en las especies *Mycobacterium simie* y *Mycobacterium habana* TMC 5135 por técnicas analíticas y comparar la capacidad de inducción de α -TNF a fin de establecer si este componente en la cepa de referencia *Mycobacterium habana* TMC 5135 pudiera estar relacionado con su actividad inmunogénica. **Resultados.** Los resultados obtenidos aplicando estas técnicas demostró que estructuralmente la molécula del factor cuerda en ambas especies *Mycobacterium habana* TMC 5135 y *Mycobacterium simiae* era similar y en ambas cepas la inducción de producción de α -TNF no presentó diferencias estadísticamente significativas. **Conclusiones.** Se demostró que la actividad inmunogénica atribuida de la cepa cubana *Mycobacterium ‘habana’* TMC 5135 está vinculada a la composición específica del ácido micólico α -micolato y a la de sus GLPs polares.

II-30 Perfil de citoquinas en células mononucleares humanas de sangre periférica estimuladas por cepas de *Cryptococcus neoformans* clínicas y ambientales.

T Illnait*, T Sprong¹, GF Martínez, CM Fernández, MR Perurena, EX Monroy, M Netea¹, JF Meis². IPK, La Habana, Cuba, ¹Hospital Universitario Radboud, Holanda y ²Laboratorio de Microbiología, Hospital Canisius-Wilhelmina, Holanda. *milnait@ipk.sld.cu

Introducción. La criptococosis humana ha sido tradicionalmente asociada con excretas de aves. Estudios moleculares han demostrado diferencias genéticas entre cepas de origen clínico y ambiental, lo cual pudiera tener implicaciones patogénicas. **Objetivo.** Conocer el posible poder patogénico de *Cryptococcus neoformans* ambientales; se compararon los perfiles de citoquinas producidos por aislamientos obtenidos de excretas de palomas y pacientes. **Resultados.** Para esto se emplearon células mononucleares periféricas de donantes sanos que fueron enfrentadas a 12 cepas representativas de los principales clones detectados al estudiar ambos grupos de aislamientos mediante STR. Los monocitos fueron estimulados con inóculos de 10⁵, 10⁶ y 10⁷ levaduras/mL inactivados por calor. Los sobrenadantes de los cultivos fueron testados para TNF α , IFN γ , IL1 α , IL1 β , IL22, IL6, IL10 e IL17 mediante ELISA comercial. De las citoquinas estudiadas pertenecientes al patrón Th1, TNF α , IFN γ e IL1 β no fueron detectables bajo las condiciones estudiadas en ninguno de los grupos; de otra parte, se logró mostrar la presencia de IL22 e IL1 α (especialmente de esta última) frente a ambos grupos de cepas con valores superiores en las ambientales. De las citoquinas estudiadas que tributan a los patrones Th2 y Th17, se obtuvo baja o ninguna señal independientemente del origen de la cepa. De forma general, los niveles más elevados de citoquinas se obtuvieron con inóculos de 10⁷ levaduras/mL. **Conclusiones.** Estos resultados pudieran sugerir que las cepas clínicas y ambientales de *C. neoformans* estudiadas, presentan un patrón de estimulación Th1/Th2 similar de lo que pudiera sugerir una capacidad patogénica homóloga.

II-31 Primer reporte en Cuba de la infección por poliomavirus en individuos seropositivos al VIH-1 y receptores de trasplante.

PA Martínez*, V Kourí, G Cordero, Y Soto¹, V Capó, C Correa, Y Alemán, L Pérez, A Álvarez, C Silvério¹, N Honda¹, M González¹, I Álvarez¹, E Dorticós², A Arencibia², M Silva², JC Jaime², S Sarduy², J Florin³, L Pérez³, IP Duran³, JJ Marchena³, L Solar³. IPK, ¹Hosp. William Soler, ²IHI y ³Hosp. Pediátrico de Centro Habana, La Habana, Cuba. *arielmr@ipk.sld.cu

Introducción. BKV, JCV y SV40 son poliomavirus que pueden producir un amplio rango de patologías en humanos en condiciones inmunosupresión. **Objetivo.** Determinar la frecuencia de la infección por BKV, JCV y SV40 en diferentes grupos de riesgo de individuos cubanos. **Resultados.** Mediante PCR anidada múltiple se amplificó un fragmento del gen del antígeno T largo de los poliomavirus a partir de 77 muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes seropositivos al VIH-1 con meningoencefalitis; 65 muestras de orina y 119 muestras de plasma de 29 receptores de trasplante de órganos sólidos (13 adultos y 16 niños) y dos niños receptores de médula ósea. El ADN de JCV se detectó en el 2,6% de los LCR de pacientes seropositivos al VIH-1, no encontrándose infección por BKV o SV40. Aquellos individuos con PCR positivo a JCV en LCR presentaron lesiones focales del SNC, confirmando el diagnóstico imagenológico de leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP). En adultos receptores de trasplante renal se encontró excreción en orina

de BKV y JCV en 38,6% y 7,7%; respectivamente. La viruria de BKV se asoció de forma significativa con el trasplante renal y con episodios de rechazo agudo. Solo un niño receptor de trasplante de hígado excretó BKV en la orina (5,5%). No se comprobó que aquellos pacientes con infección activa por BKV desarrollaran viremia. **Conclusión.** Aunque la infección del SNC por poliomavirus en pacientes cubanos seropositivos al VIH-1 no es muy frecuente, la infección activa por BKV pudiera ser una causa importante de rechazo al trasplante renal en el adulto.

II-32 Viremia y excreción asintomática del virus de la hepatitis E en trabajadores de granjas porcinas. Primer reporte en Cuba. MC Montalvo*, B Correia, M Bello, P Pedroso, M Sánchez, L Rodríguez. IPK, La Habana, Cuba. *mcary@ipk.sld.cu

Introducción. El principal reservorio no humano del VHE es el cerdo, por lo que la transmisión zoonótica es una de las vías de exposición al virus. **Objetivos.** Evaluar la seroprevalencia de anti-VHE, los factores de riesgo asociados en cuatro granjas porcinas de la provincia de La Habana. **Resultados.** Después de obtener el consentimiento informado, a 106 personas se les aplicó una encuesta epidemiológica y los sueros fueron evaluados para Ig totales anti-VHE, ALAT y ASAT. La TR-RCP se empleó para la detección del genoma del VHE y se aplicó a los sueros anti-VHE positivos y a las muestras de heces obtenidas de estas mismas personas. La prevalencia del VHE fue 35,8% (38/106; IC 95%: 27,32-46,34). La presencia de anti-VHE tuvo una asociación estadísticamente significativa con la edad (60-70 años) y el tiempo laboral (5-14 años). Valores elevados de ASAT se detectaron en el 33,3% de los anti-VHE positivo, mientras que en el 3% de estas personas se detectaron valores anormales de ALAT. La viremia se detectó en el 5% de las muestras estudiadas y la excreción del VHE en heces en el 60%. Se identificó que el genotipo 3 del VHE en las muestras secuenciadas. **Conclusiones.** Los resultados sugieren que estos trabajadores deben ser considerados un grupo de riesgo para la infección por el VHE en Cuba y que la presencia de ARN del VHE en personas sin manifestaciones clínicas, indica que las infecciones asintomáticas son comunes, constituyendo una fuente importante de contaminación para el resto de la comunidad.

II-33 Evaluación clínico nutricional del lesionado complejo. M Díaz*, A del C Sin Mayor, M Rodríguez. HMC Luís Díaz Soto, La Habana, Cuba. ismmds@infomed.sld.cu

Introducción. El trauma provoca importantes alteraciones clínicas y metabólicas, que de no ser corregidas conllevan a complicaciones y muerte. **Objetivo:** Evaluar el TRISS, como predictor del estado clínico nutricional en los lesionados por trauma. **Resultados.** Del total de los pacientes, 37 de ellos (67,3%) presentaron algún tipo de complicación, el 42,19% de origen infeccioso. Durante el estudio fallecieron 10 pacientes (18,2%), el 50% por sepsis. El 100% de los pacientes con una PS $\geq$ 78% (más graves) presentó algún tipo de complicación. La relación entre la PS por grupos y los valores de proteínas totales y albúmina, mostró que estas últimas disminuyeron a medida que decrecía la PS. La albúmina tuvo un comportamiento similar y sólo se alcanzó los valores de referencia a los 21 días en el grupo con PS $\geq$ 92%. Al relacionar a la glucosa con la PS por grupos se observó que la glicemia ascendió a medida que disminuía la PS. En el grupo de PS $\geq$ 78% fue donde único se manifestó la hiperglicemia (en las primeras 24 horas). Se demostró hipocolesterolemia (más evidente al séptimo día) en los dos grupos de menor PS. **Conclusiones.** La respuesta sistémica a la injuria provocó afectaciones en la respuesta metabólica de los pacientes, más intensa durante la primera semana en aquellos con peor pronóstico y en los fallecidos, lo que reafirma el valor del estado nutricional en la morbilidad de estos casos

II-34 Determinación de inmunoglobulinas en niños asmáticos. M Padilla*, C González, AJ Jaula¹, C Insua¹. Instituto Angiología y ¹IHI. *mipady@infomed.sld.cu

Introducción. El asma bronquial es un desorden inflamatorio crónico de las vías aéreas, con participación predominante de mastocitos y eosinófilos, que causa síntomas comúnmente asociados a obstrucción variable del flujo aéreo que con frecuencia es reversible espontáneamente o como consecuencia de un tratamiento y causa un incremento asociado en la reactividad de la vía aérea ante una amplia variedad de estímulos. La interacción de los factores genéticos con los elementos ambientales determina la prevalencia real de la enfermedad. **Objetivos.** Determinar la respuesta de anticuerpos. **Resultados.** Se realizó la cuantificación de inmunoglobulinas a 43 niños asmáticos entre 5 y 12 años de edad, remitidos de la consulta de alergia del hospital "William Soler", 26 de ellos con pruebas cutáneas reactivas a ácaros *Blomia tropicalis*, *Dermatofagoides siboney* y *D. pteronissinus* y 17 con resultados negativos. El 100% con pruebas cutáneas

positivas presentó inmunoglobulinas normales, mientras que 58,8% (10) de los que resultaron negativos a las pruebas cutáneas presentaron déficit de IgA y el resto 41,1% (7) tenían IgG bajas. **Conclusión.** Se demostró que existía una asociación entre infecciones frecuentes con baja respuesta humoral y asma intrínseca en tanto que los pacientes con asma extrínseca presentaron respuesta inmune normal.

Sesión III. InmunoDiagnóstico

Tribunal. Odalys Orraca, Yaimé González, Raquel González, Orlando Serrano, Mariola García y Bernardo Castro

III-1 Concentraciones de anticuerpos frente al toxoide diftérico y toxoide tetánico en niños asmáticos y no asmáticos, efecto del tabaquismo materno. S Montesino*, D La R Hernández, PA Valdés, L Besos, T Valmaseda, A Alerm, RF Ochoa. UCM de La Habana, Cuba. *maiza@infomed.sld.cu

Introducción. Tanto el asma bronquial alérgica como el tabaquismo materno durante la gestación (TM) constituyen factores perjudiciales sobre la salud y en particular sobre el desarrollo del sistema inmune en el primer año de vida. Por esta razón en este trabajo se exploró el posible efecto de los mismos sobre la respuesta de anticuerpos ante las vacunas diftérica y tetánica en niños de 2 años que cumplieron el esquema primario de vacunación para éstos inmunógenos. Para esto se compararon las medias geométricas de las concentraciones de anticuerpos entre: 1) asmáticos vs. no asmáticos, 2) TM vs. no TM. **Objetivos.** Conocer la influencia del asma bronquial y el tabaquismo materno sobre la respuesta inmune humoral inducida por las vacunas que contengan toxoide diftérico y tetánico en niños. **Resultados.** Los resultados de esta comparación se replicaron mediante un ANOVA de dos vías, el cual permitió explorar el efecto de interacción entre ambos factores. Para la muestra utilizada, no se encontraron ni efectos principales ni de interacción significativos del asma y el TM sobre la respuesta inducida por las vacunas. Sin embargo, la respuesta fue menor en cualquier condición respecto a la condición no asmático y no TM, lo cual concuerda con la literatura. **Conclusiones.** Tanto el asma como el TM resultan igualmente perjudiciales para el desarrollo del sistema inmune. Los niveles de antitoxina tetánica fueron suficientes para conferir protección, aunque se detectó un elevado porcentaje de niños con niveles no protectores frente al toxoide diftérico.

III-2 Lactancia materna y respuesta humoral a vacunas de toxoide tetánico y diftérico en niños de 2 años. D La R Hernández*, S Montesino, PA Valdés, L Besos, T Valmaseda, A Alerm, RF Ochoa. UCM de La Habana, Cuba. *deyani@infomed.sld.cu

Introducción. El mejor inductor de maduración inmunológica durante la etapa postnatal es la lactancia materna, que constituye un proceso único, proporciona la alimentación ideal a lactantes, contribuye a su crecimiento y desarrollo saludable, reduce la incidencia y la gravedad de las enfermedades infecciosas, por lo que disminuye la morbilidad infantil. Teniendo en cuenta que el impacto de la lactancia materna sobre la respuesta a la vacunación es controversial, nos propusimos evaluar la influencia de la lactancia materna sobre la respuesta humoral a las vacunas de toxoide tetánico y diftérico en niños de 2 años de edad que culminaron la etapa básica de inmunización del esquema de vacunación infantil. Se seleccionaron 44 niños, los cuales se diferenciaron en dos grupos de estudios de acuerdo al tiempo de lactancia materna que recibieron. **Objetivo.** Evaluar la influencia de la duración de la lactancia materna sobre la respuesta humoral inducida por las vacunas con toxoide tetánico y diftérico en niños de 2 años de edad. **Resultados.** Se pudo constatar que la lactancia materna exclusiva por seis meses o más determina un incremento en las concentraciones de antitoxina diftérica mientras que no se evidencian diferencias en cuanto a las concentraciones de antitoxina tetánica, entre niños lactados por seis meses o más de manera exclusiva con aquellos que fueron lactados por períodos inferiores. **Conclusiones.** La duración de la lactancia materna no influyó en los niveles de antitoxina tetánica. La totalidad de los niños están protegidos frente al toxoide tetánico, más se registró un porcentaje relativamente alto de niños no protegidos por la vacuna con toxoide diftérico.

III-3 Caracterización del asma bronquial en el municipio Centro Habana, 2008-2009. A Chang*, T Lahera¹, A Ginard, O González². Hosp. Hnos. Ameijeiras, ¹UCM y ²Hospital Manuel Fajardo, Habana, Cuba. *tania@cngen.sld.cu

Introducción. El asma constituye un problema mundial, tanto por su morbilidad, como por la discapacidad asociada a su mal control, además de su repercusión sobre la familia y la sociedad. **Objetivo.** Caracterizar según variables

clínicas y epidemiológicas el asma bronquial en el municipio Centro Habana, durante el período 2008 - 2009. **Resultados.** Se realizó un estudio descriptivo transversal. La muestra se obtuvo por muestreo aleatorio estratificado, teniendo en cuenta la edad de los pacientes. Se crearon dos grupos de estudio conformados por 69 pacientes menores de 60 años y 61 mayores de 60 años. Se evaluaron variables clínicas y epidemiológicas como presencia de marcadores de atopia, reactividad a ácaros según la técnica del Prick Test, valores de IgE séricas, según la técnica ELISA, así como presencia de hábito de fumar, factores desencadenantes y grado de control del asma. Para el análisis estadístico se utilizaron medidas de resumen para variables cualitativas y cuantitativas, la Prueba T y la Prueba de Mann Whitney. Se apreciaron diferencias significativas a favor de los pacientes menores de 60 años en los marcadores de atopia y el grado de control del asma. En ambos grupos predominó la reactividad a los tres ácaros en estudio, siendo considerable el número de pacientes mayores de 60 años que no tuvieron ninguna positividad. **Conclusiones.** No se apreciaron diferencias significativas en los valores de IgE ni la presencia de hábito de fumar. Los principales factores desencadenantes de crisis fueron los cambios de temperatura y el polvo doméstico para ambos grupos.

III-4 Citocinas proinflamatorias en pacientes con diagnóstico de infección por influenza A (H1N1) 2009 en Cuba. Y Adams*, A Piñón¹, O Valdés¹, B Acosta¹. UCM de La Habana; ²IPK, La Habana, Cuba. *yamila.adams@infomed.sld.cu

Introducción. Desde finales de marzo del año 2009, en México fue detectado un brote de infección respiratoria aguda con transmisión elevada y evolución atípica, en el que se identificó como agente causal al virus influenza A (H1N1) 2009. La mayoría de los pacientes afectados evolucionaron a la recuperación sin complicaciones. Sin embargo, otro grupo de casos presentó una evolución tórpida describiéndose la participación probable de mediadores inflamatorios del hospedero. **Objetivo.** Estimar las asociaciones entre la expresión de citocinas pro-inflamatorias, la enfermedad grave y factores de riesgo. **Método.** Se realizó un estudio retrospectivo en pacientes (n=76) diagnosticados con Influenza A (H1N1) 2009. Se determinó el ARNm de citocinas proinflamatorias, enzima oxido nítrico sintetasa inducible y el receptor tipo toll 2 mediante RT RCP en tiempo real semicuantitativo. La delección delta 32 del receptor CCR5 se investigó mediante el empleo de un ensayo de RCP convencional. **Resultados.** Las citocinas detectadas con mayor frecuencia fueron CCL5 e IL8, seguidas de IL1 β y NOS2, así como TLR 2, con diferencias significativas según severidad clínica y la presencia de factores de riesgo. La delección delta 32 del receptor CCR5 se encontró con expresión heterocigótica en 18 casos, relacionándose con mayor frecuencia a los graves y fallecidos. **Conclusiones:** Se observó asociación entre los mediadores inflamatorios del hospedero y la gravedad del cuadro clínico, sugiriendo su importancia en la inmunopatogenia de la infección, su utilidad como indicadores de mal pronóstico y posibles dianas terapéuticas.

III-5 Respuesta autoinmune en pacientes con defectos congénitos y sospecha clínica de inmunodeficiencia. B Torres*, G Martínez, A Lantigua, S Rangel. Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba. barbara.torres@infomed.sld.cu

Introducción. Las infecciones recurrentes constituyen uno de los candidatos para la evaluación del sistema inmune en las inmunodeficiencias y estas han sido asociadas a muchas enfermedades genéticas. Ambas enfermedades se relacionan con las enfermedades autoinmunes. Ante la frecuencia aumentada de pacientes con defectos congénitos, que presentaron infecciones recurrentes y motivaron la sospecha de inmunodeficiencia y la necesidad de estudiar, diagnosticar y tratar las alteraciones inmunológicas de los pacientes procedentes de la consulta de Genética Médica del Hospital "Juan Manuel Márquez" (HJMM), se realizó un estudio descriptivo, transversal. **Objetivo.** de evaluar la respuesta autoinmune de estos pacientes. **Resultados.** En la evaluación de la respuesta autoinmune la mayor positividad correspondió a la determinación de inmunocomplejos circulantes (40%) y factor reumatoideo (40%), la determinación de anticuerpos contra el ácido desoxiribonucleico de doble cadena (35%) y por último los anticuerpos antinucleares en el 4% de los pacientes. Estas alteraciones pueden deberse a las infecciones recurrentes que presentaron estos pacientes, las cuales pueden conllevar al desarrollo de la autoinmunidad. **Conclusiones:** En los pacientes con defectos congénitos y sospecha de inmunodeficiencia es frecuente encontrar parámetros autoinmune alterados sin enfermedad autoinmune manifiesta.

III-6 Evaluación de péptidos sintéticos para la detección de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*. I Hernández*, M Hernández, J González, G Ramos. CIE, La Habana, Cuba. *iqvih2@cie.sld.cu

Introducción. La enfermedad de Chagas es una parasitosis producida por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*. Es endémica de regiones tropicales de América del Sur y América Central, donde se considera uno de los principales problemas de salud pública. **Objetivo.** Realizar un estudio de la antigenicidad y especificidad de seis péptidos sintéticos quiméricos (Q-1 a Q-6) representativos de epítomos repetitivos inmunodominantes de la membrana del *T. cruzi*, 15 péptidos monoméricos (SA-1 a SA-15) correspondientes a la proteína SAPA (*Shed Acute Phase Antigen*), representativos de la fase aguda de la enfermedad y un antígeno monomérico TSA (*Trypomastigote Surface Antigen*). **Resultados.** Para

evaluar la antigenicidad y especificidad de los péptidos se utilizó un ensayo UltramicroELISA de tipo indirecto. Se emplearon muestras positivas procedentes de Colombia, Brasil y Bolivia confirmadas por IFI y ELISA Chagatek® (n=110), así como 12 muestras del Panel *Boston Biomédica* (PMT 202). La especificidad se evaluó con muestras negativas (n=403) procedentes del Banco de Sangre del Vedado y muestras positivas (n=86) a diferentes agentes infecciosos. Los péptidos con mayor antigenicidad fueron Q-5, SA-15 y TSA-E3. La especificidad fue de un 100% para todos los péptidos sintéticos evaluados. **Conclusiones.** Los resultados de este trabajo demuestran la posible utilidad de estos péptidos sintéticos para el inmunodiagnóstico de la enfermedad de Chagas, en la certificación de sangre y vigilancia epidemiológica fundamentalmente en países de América Latina y recientemente en nuestro país para la población de alto riesgo (extranjeros y colaboradores cubanos provenientes de regiones endémicas).

III-7 Elementos de Inmunoquímica: una opción para el Plan de Estudios de la carrera de Química. HJ Morris*, G Llauradó. Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Facultad de Ciencias Naturales, Univ. de Oriente, Santiago de Cuba. *gabriel@cnt.uo.edu.cu

Introducción. Como parte del perfeccionamiento continuo de los planes de estudio, la carrera de Química comenzó en el curso 2006-2007 la aplicación de la cuarta generación de planes, denominado Plan "D". Este nuevo plan ha dado la oportunidad de impartir asignaturas optativas para garantizar la ampliación y actualización de variados temas relacionados con la profesión. **Objetivo.** Teniendo en consideración que egresados de la carrera de Química de la Universidad de Oriente se desempeñan profesionalmente en actividades afines a la Inmunoquímica, se presenta el Programa analítico de la asignatura Elementos de Inmunoquímica, introducida con carácter optativo en el quinto año. Se contempla además, el sistema de evaluación y de valores definido para la misma. **Resultados.** Se logró el cumplimiento del objetivo de la asignatura a un nivel productivo. Los estudiantes desarrollaron valores como el amor por la investigación científica, el colectivismo y convicciones bioéticas que permitan considerar al hombre y su bienestar como fin primario del saber humano. La evaluación tuvo un carácter sistemático y se realizó, además, un trabajo extraclase relacionado con las aplicaciones de las técnicas inmunoquímicas en la biomedicina, la industria y el medio ambiente. **Conclusiones.** Se propone el Programa Analítico de la asignatura Elementos de Inmunoquímica en el currículo optativo del Plan de Estudios "D" de la carrera de Química. La asignatura permitió a los estudiantes relacionarse con las técnicas inmunoquímicas y sus principales sectores de influencia en la actualidad; esto condicionará su actuación en grupos multidisciplinarios con creatividad e independencia.

III-8 Detección del ARN del virus de la hepatitis C en muestras de sangre seca sobre papel de filtro empleando el ensayo UMELOSA® HCV CUALITATIVO. YJ González*, JE Figueredo, Y Perea, A Armas, I García. CIE, La Habana, Cuba. *iqbmolecular@cie.sld.cu

Introducción. Más de 170 millones de personas en el mundo están infectadas con el virus de la hepatitis C (VHC), considerado una pandemia por la OMS. El diagnóstico serológico y molecular del mismo se realiza fundamentalmente mediante muestras de suero o plasma, sin embargo, las ventajas de la colecta de sangre seca sobre papel de filtro han permitido estudiar poblaciones aisladas, de difícil acceso, reclusos, etc. **Objetivo.** Desarrollar y validar un procedimiento que permita la detección del ARN del VHC en muestras de sangre en papel de filtro (PF) utilizando el UMELOSA® HCV CUALITATIVO, ensayo estandarizado para suero o plasma humano. **Resultados.** Se normalizó un procedimiento de extracción del ARN viral, que consistió en tomar cinco ponches de 5 mm de sangre seca, eluirlos con 500 µL de tampón de lisis y precipitar el ARN con 350 µL de isopropanol. Se validó el ensayo desarrollado, mostrando una especificidad clínica del 100% y sensibilidad del 98%. El límite de detección al 95% fue 2 607,1 UI/mL. Se obtuvo un índice de concordancia de 0,99 al comparar el ensayo en PF con el ensayo en suero como referencia y un coeficiente de correlación $r=0,9868$ para una $p<0,001$. Las muestras de concentraciones elevadas de VHC, conservadas a -20 °C, 4 °C y 25 °C resultaron detectables al ARN viral hasta 30 días después de colectadas en dependencia de su concentración. **Conclusión.** El procedimiento desarrollado para detectar ARN del VHC en muestras de sangre sobre papel de filtro mostró resultados satisfactorios, lo que permite extender el rango de aplicación del UMELOSA® HCV CUALITATIVO.

III-9 Asociación de marcadores serológicos y genéticos de la enfermedad celiaca con esquizofrenia. A Galván*, M Nazabal, H Camacho, ME Fernández, A Ferrer, I Guillen, R Mendoza¹, A García¹, M Domínguez¹, A Villareal, J Roca, J Benítez, LI Novoa. CIGB; ¹Centro de Neurociencias, La Habana, Cuba. *armando.galvan@cigb.edu.cu

Introducción. Varios estudios sugieren una interesante relación entre la ingestión de gluten y la esquizofrenia. En pacientes con esquizofrenia se ha observado un incremento de los niveles de anticuerpos anti-gliadinas (AGA) y anti-transglutaminasa (ATG). **Objetivo.** Comparar la prevalencia de AGA, ATG y de los alelos HLA DQA1*0501-DQB1*02

(DQ2) y HLA-DQA1*0301-DQB1*0302 (DQ8) entre pacientes con esquizofrenia y un grupo control. **Resultados.** Se evaluaron 108 pacientes con diagnóstico de esquizofrenia y 60 controles sanos. Los AGA se determinaron por un método semicuantitativo visual y los ATG por un ensayo inmunocromatográfico de un solo paso (ambos producidos en el CIGB) y por ELISA CelikeyIgA. El tipaje de HLA se realizó por PCR utilizando una secuencia específica de cebadores para cada alelo. Determinamos que 34 (31,48%) pacientes con esquizofrenia fueron positivos para AGA contra 7 (11,66%) individuos del grupo control ($p < 0,05$), encontrándose una fuerte asociación de los AGA con la esquizofrenia con un odd ratio de 3,4788 (CI 95%, 1,4333-8,4431). Ambos grupos estudiados resultaron negativos para ATG por los métodos ensayados. No se encontró una asociación significativa para la presencia de los heterodímeros del HLA DQ2 y DQ8, pero los alelos HLA DQA1*0301 y DQB1*02 se asociaron con la esquizofrenia y confieren susceptibilidad con un odd ratio de 2,803 (CI 95%, 1,273-6,172) y 2,368 (CI 95%, 1,237-4,534), respectivamente. **Conclusiones.** Nuestro estudio sugiere que la presencia de AGA y de los alelos HLA DQA1*0301 y DQB1*02 no están asociados entre ellos, pero si correlacionan con la esquizofrenia y confieren susceptibilidad.

III-10 Asociación entre el conteo de células CD4+ y las características biológicas de aislamientos procedentes de seropositivos al VIH-1. L Navea*, Y Sánchez, M Dubed, E Noa, H Díaz, L Machado, A Durán. LISIDA, Mayabeque, Cuba. *lisida@infomed.sld.cu

Introducción. La emergencia de variantes inductoras de sincicios del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) se asocia con una declinación en los conteos de los linfocitos T CD4+, acelerada progresión de la enfermedad y reducción del tiempo de sobrevida en individuos no tratados. **Objetivos.** Analizar las características biológicas de aislamientos primarios de seropositivos al VIH-1 vírgenes de tratamiento, de reciente diagnóstico y su asociación con los conteos de células CD4+. **Resultados.** Se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de 16 personas infectadas y se cocultivaron con CMSP de donantes sanos. Los cultivos se mantuvieron durante 28 días a 37 °C y atmósfera húmeda con 5% de CO₂ y se examinaron bajo el microscopio invertido para observar la aparición de efecto citopático. Se monitorearon por ELISA de captura de antígeno p24 para detectar la multiplicación viral. La inducción de sincicios (IS) o no (NIS) se realizó mediante el cocultivo con células de línea MT2. Se determinó el uso de los correceptores mediante el análisis genotípico del lazo V3 de la gp120. El 100% de las cepas clasificadas como IS mostraron un conteo de CD4+ menor de 350 céls/mL, un comportamiento similar mostró el 20% de las NIS mientras que el 80% con este fenotipo tuvieron un recuento mayor de 400 céls/mL. Se encontró relación entre las características genéticas y biológicas de los aislamientos obtenidos. **Conclusión.** El fenotipo biológico de los aislamientos se asoció con características inmunológicas típicas del grupo evaluado.

III-11 Presencia de anticuerpos al virus de la leucosis bovina en rebaños de Cuba. I Delgado*, A Alfonso, N Martínez, MA Abeledo, M Rodríguez, M Barrera. CENSA, Mayabeque, Cuba. *subdoc.cotorro@rect.edu.cu

Introducción. La leucosis enzoótica bovina (LEB) es una enfermedad infecciosa producida por un retrovirus, el virus de la leucemia bovina (VLB), con período de incubación prolongado y curso crónico e inaparente. Del 30 al 70% de los animales infectados son portadores asintomáticos, con un proceso de linfocitosis persistente; solamente el 0,5 al 5% cursan con manifestaciones clínicas de linfosarcoma y se reporta un decrecimiento de la producción de leche. Afecta a bovinos adultos, aunque la infección puede aparecer en animales jóvenes; las hembras sometidas a factores estresantes están expuestas a padecer formas más severas de la enfermedad. **Objetivo.** Realizar un estudio serológico a varios rebaños bovinos adultos seleccionados por su potencialidad para el comercio. **Resultados.** Un total de 597 muestras de suero de bovinos adultos sanos, procedentes de Pinar del Río, La Habana, Ciudad Habana y Villa Clara, fueron analizadas a través de un ELISA Indirecto. El 25,9% de las muestras estudiadas resultaron positivas a anticuerpos contra el VLB. Los resultados obtenidos coinciden con reportes anteriores para la región, donde se refiere una alta prevalencia de anticuerpos a este virus. **Conclusiones.** El estudio permitió obtener información sobre la presencia de anticuerpos al VLB en bovinos adultos. Estos resultados sugieren la necesidad de realizar una encuesta para determinar la seroprevalencia en rebaños representativos de todo el país, teniendo en cuenta que el mayor impacto económico de la enfermedad lo tiene en el comercio internacional.

III-12 Purificación de la proteína de 24 kDa del Virus de Inmunodeficiencia Humana tipo1 a partir de una nueva formulación del antígeno inactivado del VIH-1. A Fragas*, DF Díaz, E Ortiz, E Noa, M Frías, E Silva. LISIDA, Mayabeque, Cuba. *feloany@infomed.sld.cu

Introducción. La proteína de 24 kD (p24) del virus de inmunodeficiencia humana tipo1 (VIH-1) se obtiene al purificar antígenos naturales de VIH-1. Los cambios realizados en la metodología de obtención de lisados virales de VIH-1

incrementaron el rendimiento de estos, pero se desconocía su efecto sobre la actividad biológica de la p24. **Objetivo.** Demostrar que con la nueva metodología de obtención de antígenos naturales de VIH-1 no se afectaron las características antigénicas e inmunogénicas de la p24 purificada. **Resultados.** El antígeno de VIH-1 se purificó por cromatografía de inmutafinidad AcM p24- Sefarosa. La antigenicidad de la proteína purificada se confirmó por Western Blot, donde se incluyó como control un antígeno de VIH-1 y una p24 purificada a partir de un antígeno obtenido por la metodología anterior; la membrana se reveló inmunológicamente con un suero positivo de VIH-1. Se inocularon conejos con el producto purificado para la caracterización inmunogénica y el suero de los mismos se analizó con un ELISA para detectar anticuerpos anti p24. El Western Blot reveló, tanto en la proteína purificada como en la p24 control, reactividad a dos proteínas que se correspondieron con la p55 y p24 del antígeno de VIH-1. La titulación de los sueros de conejos por ELISA llegó a reportar títulos de anticuerpos contra la p24 de hasta 1:1250, luego de la última inoculación. **Conclusión.** Se demostró que no se afectaron las características antigénicas e inmunogénicas de la p24 purificada.

III-13 ¿Doble Infección por VIH-1 y VIH-2 en Cuba? DF Díaz*, E Ortíz, O Cruz, M Blanco, D Martín, LY Machado, L Montano, E Silva. LISIDA, Mayabeque, Cuba. *feloany@infomed.sld.cu

Introducción. El diagnóstico de doble infección VIH-1/2 es necesario en poblaciones donde estos virus cocirculan, para tomar acciones epidemiológicas y de tratamiento dirigidas a estos casos. En Cuba, no se ha reportado doble infección a pesar de la circulación de ambos virus. **Objetivo.** Determinar si existe o no doble infección VIH-1/VIH-2 en Cuba. Se estudiaron 4920 muestras de suero positivas a VIH-1 del periodo 2005-2010 y 15 positivas a VIH-2. **Resultados.** Se ensayaron por ELISA para VIH-2 las positivas VIH-1 y las repetidamente reactivas, se les realizó Western Blot (WB) VIH-2. Los positivos a VIH-2 se analizaron por WB VIH-1. Los dobles reactivos por WB de VIH-1 y VIH-2 se analizaron por PCR-anidada con cebadores específicos para VIH-1 y VIH-2. El producto amplificado se visualizó a través de un gel de agarosa al 1,5%. Resultaron reactivas en el ELISA VIH-2, 54 muestras. Se confirmaron por WB VIH-2, 14 muestras positivas. De las muestras positivas a VIH-2 solo una resultó positiva a VIH-1. Se han estudiado por PCR el 42,8% de los dobles reactivos VIH-1/2 y todos amplificaron para VIH-1; sin embargo no hubo amplificación con los cebadores de VIH-2. El resto de los individuos se encuentran en estudio. **Conclusión.** Se demostró por primera vez la existencia de patrones serológicos doble reactivos a VIH-1/2 en Cuba. Sin embargo, el análisis con técnicas moleculares no confirmó la doble infección VIH-1/2 en la población estudiada. Se recomienda continuar con el análisis de las muestras pendientes de estudio.

III-14 Obtención y evaluación de transcriptos de VIH-1 y estándar interno para el desarrollo de un ensayo de carga viral del VIH-1. A Armas*, Y Perea, YJ González, S Dueñas¹, I González, R Robaina. CIE; ¹CIGB, La Habana, Cuba. *iqbmolecular2@cie.sld.cu

Introducción. La medición de la concentración de ARN del VIH-1 (carga viral) constituye el método de elección para evaluar la eficacia de la terapia antirretroviral. En Cuba, más de 4.200 pacientes reciben tratamiento y requieren la determinación de la carga viral para el seguimiento del mismo. **Objetivo.** Obtener y evaluar transcriptos con secuencias de VIH-1 y estándar interno (EI) para su inclusión como estándares en un ensayo de RT-PCR cuantitativo (*qRT-PCR*). **Resultados.** Se clonaron secuencias del VIH-1 y EI en el vector-T y se realizó la transcripción *in vitro* para obtener los estándares de ARN respectivos. La calidad de los mismos se verificó mediante la medición de la concentración de ARN y la evaluación del ADN contaminante. Se incluyeron como estándares en el ensayo de (*qRT-PCR*), evaluando los parámetros de la curva de cuantificación así como la exactitud del ensayo para cuantificar diluciones del estándar internacional de ARN del VIH-1 (*IS*) y muestras positivas al VIH-1. Se obtuvieron los estándares de ARN del VIH-1 y EI con un alto rendimiento y libres de contaminación con ADN en las diluciones de trabajo. En los ensayos realizados en los que se incluyeron los transcriptos, se obtuvieron curvas con coeficientes de determinación mayores de 0,99 que permitieron cuantificar con exactitud las diluciones del *IS* y las muestras positivas al VIH-1 ensayadas. **Conclusión.** Los transcriptos de VIH-1 y EI se obtuvieron con la calidad requerida y fueron útiles como estándares en un ensayo de *qRT-PCR* para la determinación de la carga viral del VIH-1.

III-15 Estandarización de la obtención de antígeno de VIH-2 para el desarrollo de un Western Blot. Y Sánchez*, E Noa, L Navea, M Debed, G Álvarez, L Lobaina, D Felipe, O Cruz, L Montano, E Silva. LISIDA, Mayabeque, Cuba. *lisida@infomed.sld.cu

Introducción. La purificación de virus es de gran importancia para la obtención de antígenos naturales en adecuadas concentraciones y pureza para la producción de medios de diagnósticos. **Objetivo.** Estandarizar un procedimiento de producción de antígeno de VIH-2 para el diagnóstico confirmatorio de este virus. **Resultados.** Se utilizó la cepa de VIH-

2 ROD y la línea celular CEM-CCRF, las cuales se inocularon con multiplicidad de infección (MOI) mayor de 0,1. El cultivo se amplió (1:5) al cuarto y noveno día por cocultivo con células CEM-CCRF. El sobrenadante se concentró con PEG-6000 (10%) y se purificó en gradientes de sacarosa por centrifugación a altas velocidades. El precipitado viral se resuspendió en solución de NTE con 2 mM de PMSF y solución de lisado. Los antígenos se corrieron electroforéticamente y se transfirieron a membranas de nitrocelulosa para posteriormente ser evaluados inmunológicamente frente a sueros reactivos positivos y negativos a VIH-2. Se establecieron como parámetros de calidad del cultivo: viabilidad (=80%), concentración celular ($= 4 \times 10^6$ cel/mL) y título viral ($= 10^5$ DICC₅₀/mL). Los antígenos presentaron un adecuado patrón de bandas de interés diagnóstico (proteínas del gen gag y env). **Conclusión.** Se logró estandarizar un procedimiento de inoculación, cosecha y purificación del VIH-2 como fuente de antígeno para el desarrollo de un Western Blot como sistema de diagnóstico confirmatorio.

III-16 Pesquiasaje y confirmación de anticuerpos al virus linfotrópico de células T humanas en poblaciones de donantes. D Martín*, F Díaz, O Isaac, N Alí, E Ortíz, H Díaz. LISIDA, Mayabeque, Cuba. *feloany@infomed.sld.cu

Introducción. El virus linfotrópico de las células T humanas (HTLV-I) es el agente causal de la leucemia/linfoma de las células T del adulto. Su transmisión, en esencia, es celular y entre sus principales vías se encuentra la sanguínea. En nuestro país se reconoce la circulación de este virus, con una prevalencia inferior al 0,5%. **Objetivo.** Estudiar la reactividad de anticuerpos específicos al HTLV-I en 3.633 muestras de suero de donantes, procedentes de dos bancos de sangre en las provincias de La Habana y Santiago de Cuba, en el periodo agosto/2009-febrero/2010. **Resultados.** Se emplearon un ensayo inmunoenzimático tipo indirecto (con fines investigativos) y el sistema comercial DAVIH-BLOT-HTLV-I (Western Blot) para el pesquiasaje y confirmación de los anticuerpos específicos anti-HTLV-I, respectivamente. Resultó reactiva en el ELISA una muestra (0,027%), procedente del banco de sangre de Santiago de Cuba, que se confirmó en el Western Blot, la cual corresponde al primer individuo seropositivo al HTLV-I del grupo de donantes en dicha provincia. **Conclusión.** Estos resultados reafirman la necesidad de pesquisar la sangre donada y se propone extender la pesquisa a otras zonas menos exploradas de nuestro país.

III-17 Pesquiasaje de inmunodeficiencias primarias en Las Tunas. Resultados preliminares. R González*, OL Pupo¹, E Reyes², M Bello¹, A Céspedes³, RM Santos, O Serrano. Hosp. Pediátrico Provincial, ¹Hosp. Ernesto Guevara, ²FCM "Soilo Marinello", ³Hosp. Pediátrico Pto. Padre; ⁵Centro Provincial de Genética, Las Tunas. *inmunoped@cucalambre.ltu.sld.cu

Introducción. Las inmunodeficiencias primarias (IDP) son un grupo de desórdenes hereditarios de la función del sistema inmune. Dado que las mismas son enfermedades poco frecuentes, pero generalmente letales, es de gran interés en el campo de la Inmunología cubana perfeccionar su diagnóstico, lo que contribuiría a la adopción de medidas terapéuticas específicas y rápidas en estos enfermos, elevando así la calidad de vida de los mismos; por ello, una vez constituido el Grupo Cubano de Inmunodeficiencias Primarias en Mayo del 2009 que se trazó, entre otros objetivos, mantener un registro de las inmunodeficiencias primarias en Cuba; nos propusimos la realización de este trabajo. **Objetivo.** Crear el Registro Provincial de IDP en Las Tunas y así contribuir con nuestros casos al Registro Nacional. **Resultados.** De los pacientes que acuden a las consultas de Inmunología de nuestra provincia, se seleccionan los que reúnen los criterios preestablecidos de inclusión y se efectúan los estudios inmunológicos que incluyen hemograma completo, cuantificación de inmunoglobulinas G, A y M y de componentes del complemento (C3 y C4) por método turbidimétrico; cuantificación de inmunoglobulina E por UMELISA; estudio celular mediante técnica de rosetas y otros estudios en casos que así lo requieran. El registro incluye hasta la fecha 57 pacientes; 52 (91,2%) deficiencias humorales, 4 (7,01%) celulares y 1 (1,7 %) asociado a otros defectos. La inmunodeficiencia más diagnosticada es el déficit selectivo de IgA (84,2%). **Conclusión:** Las inmunodeficiencias primarias más diagnosticadas en Las Tunas son las humorales, específicamente el déficit selectivo de IgA.

III-18 Pesquisa activa del cáncer de próstata en Stgo de Cuba 2008-2010 empleando un Ultra Micro ELISA de producción nacional. B Castro*², F Perera¹, K Callard², M Sabournin³. ¹Unidad Provincial de Cáncer; ²TecnoSuma Oriente Sur; ³Hosp. Juan Bruno Zayas, Santiago de Cuba, Cuba. *tecnosuma@medired.scu.sld.cu

Introducción. La introducción de la cuantificación del Antígeno Próstata Específico (PSA) ha generado controversias respecto a su empleo como marcador en la realización de pesquisas masivas. En Stgo de Cuba el cáncer de próstata ocupa la primera causa de muerte en población masculina. **Objetivo.** Evaluar el comportamiento y el valor diagnóstico de este marcador serológico en la pesquisa de cáncer de próstata en la población masculina mayor de 45 años en Stgo de Cuba, empleando el estuche diagnóstico UMELISA® PSA (TecnoSuma Internacional SA, La Habana, Cuba). **Resultados.** Se estudiaron 19.981 muestras de suero correspondientes a igual cantidad de hombres en edad de riesgo durante los

años 2008 a 2010, 823 (4,12%) tuvieron resultados $> 10 \mu\text{g/L}$ en PSA Total y 1.268 (6,35%) con resultado de PSA total entre 3, 7 y $10 \mu\text{g/L}$, de ellas 937 (73,89%) presentaron una fracción libre $< 25\%$ catalogadas como de riesgo, se evalúan en consulta de Urología los casos con resultados elevados y dudosos, se confirman por histología 167 casos con cáncer de próstata, mayormente clasificados en estadios I y II (67%), en contraste con lo observado previo a la pesquisa en que la mayoría de los recién diagnosticados clasificaban en estadios III y IV (70%). **Conclusiones.** El empleo del UMELISA PSA como método diagnóstico ha sido de gran utilidad en la realización de la pesquisa del cáncer de próstata, propiciando un diagnóstico más precoz, con lo cual debe esperarse una reducción de la mortalidad con un tratamiento más temprano y efectivo.

III-19 Pesquisaje de anticuerpos de HTLV en donantes de sangre total y de plasma en Santiago de Cuba.

O Isaac*, N Ali, H Díaz. Banco de Sangre Santiago de Cuba. *udocente.bsp@medired.scu.sld.cu

Introducción. El virus linfotrópico de células T Humano de Tipo I (HTLV I) está relacionado etiológicamente con una forma de leucemia o linfoma denominada Leucemia / linfoma de las células T del adulto (LLTA). Esta enfermedad se relaciona con un síndrome neurológico poco frecuente, como la paraparesia espástica tropical o mielopatía (PET/MAH). Es endémica en varias regiones del mundo como el Caribe y en algunos países de sur y Centroamérica. En Cuba la seroprevalencia de esta enfermedad se muestra en un índice de positividad de 0,072%, **Objetivo.** Pesquisar los anticuerpos del retrovirus HTLV-I en los donantes de sangre en Santiago de Cuba. **Resultados.** Se realizó un estudio prospectivo y aleatorio del pesquisaje del anticuerpo HTLV I en los donantes de sangre total y de plasma de esta provincia. Se analizaron 1436 muestras de sueros de donantes de sangre. Se empleó sistema de ELISA DAVIH-HTLV I para el pesquisaje de anticuerpos y como prueba confirmatoria el Western Blot DAVIH-Blot HTLV I, del Laboratorio DAVIH, Cuba. Se comprobó la presencia de anticuerpos del retrovirus HTLV I en un donante de sangre total de Santiago de Cuba arrojando una seroprevalencia de 0,06%, **Conclusión.** Por primera vez se logró determinar la incidencia del retrovirus HTLV-I en donantes de sangre en nuestra provincia, siendo la mayor referidas en estudios realizados en nuestro país para donantes de sangre y más baja que la seroprevalencia recogida en otros estudios nacionales y lo reportado para el área del Caribe.

III-20 Evaluación de conjugados para la determinación de marcadores linfocitarios en pacientes VIH/SIDA.

L Andina, M Toledano*, T Rodríguez. LABEX-CIM, Santiago de Cuba, Cuba. *marlen@cim.sld.cu

Introducción. La necesaria evaluación y seguimiento de los pacientes con VIH/SIDA, utilizando la cuantificación de las subpoblaciones linfocitarias CD3, CD4 y CD8 por Citometría de Flujo, el alto costo de estos reactivos conjugados con FITC utilizados en esta técnica recomiendan la obtención y evaluación de similares nacionales, **objetivo** del presente trabajo. **Resultados.** Se conjugó con Isotiocianato de Fluoresceína (FITC) los anticuerpos monoclonales (AcM) anti CD3, anti CD4 y anti CD8 de alta pureza. Se desarrolló el proceso de obtención de 5 lotes de cada uno de estos reactivos a los que se le evaluó la estabilidad y el funcionamiento, mediante un estudio comparativo del porcentaje de reconocimiento de los mismos y los de la firma DAKO, en muestras de sangre de 114 pacientes sanos y 119 pacientes infectados de Cuba y Brasil. Todos los parámetros evaluados demostraron la consistencia del proceso productivo al estar dentro de los límites establecidos con una relación FITC/Proteína entre 3 y 8, productos estables por un tiempo de 18 meses. Las determinaciones con los reactivos LABEX mostraron mantener la especificidad, sensibilidad y detectar portadores de VIH con valores de linfocitos T CD4+ menores de 200 cel/uL, muy similares a los obtenidos con el reactivo comercial de referencia, con un coeficiente de variación por debajo de 0,1. **Conclusiones.** Mediante los resultados obtenidos se comprobó que los reactivos LABEX son útiles para el diagnóstico y monitoreo de estas subpoblaciones linfoides en las personas infectadas por el VIH/SIDA, así como en pacientes que requieran una evaluación del sistema inmunológico.

III-21 Utilidad de la determinación anticuerpos antiespermáticos en pacientes infértiles.

LE Sánchez*, B Castro, AA Matos, E Cisneros. Hosp. Juan Bruno Zayas Alfonso, Santiago de Cuba, Cuba. *lucreciasr@hospelin.scu.sld.cu

Introducción. La infertilidad es un problema muy común, afectando a 1 de cada 6 parejas. Aproximadamente el 10% de la infertilidad sin causa aparente está dada por el factor inmunológico. Los anticuerpos antiespermático (AAE) tienen un rol considerable como causantes de infertilidad masculina y de ahí la necesidad de su búsqueda. **Objetivo.** Evaluar la utilidad de la determinación de AAE en pacientes masculinos infértiles. **Resultados.** Se estudiaron 50 pacientes de parejas infértiles procedentes de la consulta de infertilidad del Hospital General "Juan Bruno Zayas Alfonso" y como control dos pacientes normospermicos. El diagnóstico clínico identificó 34 hombres con varicoceles y 16 sin varicoceles. La determinación de AAE se realizó mediante la técnica de inhibición de la aglutinación. El análisis del líquido seminal se realizó según las normas de la OMS. El 15% de los pacientes presentaron AAE positivos correspondiéndose estos

resultados con lo reportado por la literatura, sin mostrar diferencias significativas entre los pacientes con y sin varicocele. La movilidad espermática se encontró en su totalidad disminuida. **Conclusiones.** La determinación de AAE puede introducirse en la práctica diaria de los laboratorios de reproducción para fines diagnósticos y de seguimiento.

III-22 Valores de referencia de hierro en sangre del cordón umbilical. Y Romero*, T Gómez, M Villar, L Bécquer¹, MA Mollineda¹. UNIB-UCM, ¹Univ. Central, Villa Clara, Cuba. *yansyrg@ucm.vcl.sld.cu

Introducción. La sangre del cordón umbilical ha sido de interés científico en los últimos años para la determinación de varios parámetros que brindan una información detallada del estado nutricional y metabólico del neonato. El hierro desempeña un rol significativo en las funciones celulares críticas en todos los sistemas y órganos en todas las especies, incluyendo su participación en la respuesta inmunológica celular. **Objetivo.** Determinar los valores de referencia de hierro en muestras de sangre del cordón umbilical en recién nacidos, mediante la validación y aplicación del método espectrofotométrico UV-Vis que utiliza la ferrozina en las condiciones de trabajo del Laboratorio de Diagnóstico Molecular de la Unidad de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. **Resultados.** El método espectrofotométrico propuesto fue validado parcialmente y cumple con los criterios de precisión (repetibilidad y precisión intermedia), exactitud y robustez. Los valores del intervalo de referencia de hierro sérico determinados se encuentran dentro del rango publicado en la literatura para este metal. Estadísticamente, la variable en estudio exhibe una distribución normal para recién nacidos masculinos y femeninos, por lo que el intervalo reportado es válido para ambos sexos. **Conclusiones.** La determinación de la concentración de hierro en sangre de cordón umbilical resulta útil en el caso de que existan posibilidades de alteraciones de los niveles de este metal, en orden de establecer una terapia de inicio temprano para prevenir las consecuencias nocivas de la ferropenia, o del exceso de hierro, en el caso de los prematuros.

III-23 Caracterización de cepas virulentas de *Leptospira interrogans* aisladas de casos clínicos en Nicaragua durante la epidemia provocada por el paso del huracán. Félix K Blain*, N Batista, R Oliva, DF Arencibia, LA Rosario¹, W Jirón², CH Duttman², RL Solis, L García. Instituto Finlay, ¹IFAL y ²Univ. Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua. *kblain@finlay.edu.cu

Introducción. Durante los meses de octubre-noviembre del 2007, Nicaragua sufrió severas inundaciones provocadas por lluvias constantes, causadas por el huracán Félix, que condujeron al desarrollo de brotes de leptospirosis. **Objetivos.** Evaluar el grado de virulencia de aislamientos clínicos procedentes de los departamentos de León y Chinandega, cinética de crecimiento bajo condiciones de cultivo agitado y número de dosis letal media necesaria para provocar infección letal en el modelo animal Hámster Sirio. **Resultados.** Se analizaron muestras de hemocultivos tomadas en fase aguda de casos con sospecha clínica de leptospirosis. Todas las muestras fueron inoculadas en hámster para estimar el grado de virulencia. Las muestras que resultaron altamente virulentas fueron inoculadas nuevamente en hámster por el método de Fajardo y cols., para determinar el número de dosis letales media y luego subcultivadas en medio líquido para realizar el estudio de la cinética de crecimiento. La inoculación en el modelo animal permitió identificar un número de aislamientos virulentos y no virulentos. La dosis letal media de los aislamientos virulentos osciló entre 32 y 4 células aproximadamente. La cinética de crecimiento estuvo en correspondencia con los patrones de crecimiento que se describen para este tipo de microorganismo. **Conclusiones.** Los resultados del presente estudio sugieren que en los departamentos de León y Chinandega circulan cepas de *L. interrogans* que se mantienen estables en el tiempo en cuanto a la virulencia, independientemente del serovar circulante.

III-24 Aplicación de diferentes métodos inmunoquímicos para la detección y genotipificación de Papillomavirus humanos en muestras de neoplasia intraepitelial cervical de mujeres cubanas. Y Soto*, G Torres, A Ruíz¹, V Capó, V Kourí, A Goicolea², LLópez, A Govín, PA Martínez. IPK; ¹Facultad de Biología; UH y ²Hospital Ginecobstétrico "Eusebio Hernández". *yudira@ipk.sld.cu

Introducción. En Cuba, el diagnóstico del cáncer cervicouterino se basa en la citología, colposcopia y biopsia que permiten discriminar alteraciones celulares pero no detectan la presencia viral. **Objetivos.** Demostrar la utilidad del diagnóstico virológico de las infecciones producidas por Papillomavirus humano tipo 16, mediante el empleo de métodos inmunoquímicos y moleculares, en mujeres con diferentes clasificaciones citológicas por la técnica de Papanicolaou. **Resultados.** Se estudiaron 100 muestras cervicales (50 con citología negativa y 50 con citología positiva) de pacientes entre 30 y 59 años, mediante técnicas inmunoquímicas y Reacción en Cadena de la Polimerasa empleando los cebadores MY09/11. Se analizaron los factores de riesgo con respecto a la infección por PVH y al resultado de la prueba citológica. Se detectó antígeno de PV16 en el 96% y ADN del virus, en el 74% de los casos positivos por citología, ya sean de bajo,

alto grado o cáncer. En el 56% de los casos con citología negativa se pudo detectar PVH 16 por las técnicas moleculares utilizadas. Se encontró relación entre el uso de anticonceptivos orales y el riesgo de presentar citología positiva ($X^2=9,04$ (gl=1); $p=0,008$) e infección por PVH ($X^2=4,53$ (gl=1); $p=0,03$). **Conclusiones.** Se demostró la validez de la técnica de Inmunocitoquímica (ICQ) como prueba confirmatoria para la presencia de infección por PVH 16, presentando una elevada sensibilidad, comparándola con la citología y la RCP. La ICQ es una metodología sensible, sencilla, rápida, relativamente barata y que no requiere de una compleja infraestructura para detectar PVH en muestras clínicas.

Sesión IV. Inmuno-terapia, -trasplante, -tumoral y -veterinaria

Tribunal. Celia Fernández, Yolanda Trujillo, Reynaldo Oliva y Luz Morera

IV-1 Obtención de un nuevo fragmento de anticuerpo neutralizante del VEGF humano a partir de una biblioteca sobre fagos mediante el uso de una estrategia de perturbación epitópica. H Lamdan*, M Ayala, G Rojas, Y Muñoz, Y Morera, JV Gavilondo. CIGB, La Habana, Cuba. *humberto.lamdan@cigb.edu.cu

Introducción. A pesar del amplio uso clínico del Bevacizumab (Avastin®), un anticuerpo monoclonal humanizado que bloquea la interacción del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) con sus receptores, actualmente continúa la búsqueda de nuevos anticuerpos neutralizantes dirigidos contra este blanco. **Objetivos.** Utilizar una variante mutada del VEGF humano que contiene tres mutaciones en la región reconocida por el Bevacizumab, con el objetivo de dirigir la selección de anticuerpo de una biblioteca sobre fagos hacia el reconocimiento de otros epitopes. **Resultados.** Mediante esta estrategia de perturbación epitópica se seleccionaron un total de siete fragmentos de anticuerpos con diferentes propiedades de reconocimiento del antígeno. Todos los fragmentos de anticuerpos sobre fagos reconocieron además del antígeno mutado empleado para la selección al VEGF nativo. Uno de ellos, denominado 2H1, fue capaz de competir con el receptor 2 del VEGF por la unión a su ligando. El 2H1 expresado como fragmento de anticuerpo soluble bloqueó de manera dosis-dependiente la unión ligando-receptor e inhibió la proliferación de células endoteliales humanas mediada por VEGF. **Conclusiones.** Nuestra estrategia de perturbación epitópica basada en el uso de un antígeno mutado como blanco fue exitosa en dirigir la selección de anticuerpos hacia epitopes diferentes al reconocido por el Bevacizumab. El uso de estrategias similares a la nuestra pudiera ser útil en la búsqueda de anticuerpos con una especificidad deseada en otros sistemas antigénicos. Este fragmento de anticuerpo tiene un potencial terapéutico para el tratamiento del cáncer y otras enfermedades que cursan con una angiogénesis patológica.

IV-2 Evaluación de la inmunogenicidad y seguridad de una vacuna terapéutica para cáncer basada en el VEGF en primates no humanos. Y Morera*, M Bequet, M Ayala, J Castro, P Puente, J Suárez, J Ancizar, M Rodríguez, K Cosme, JV Gavilondo. CIGB, La Habana, Cuba. *yanelys.morera@cigb.du.cu

Introducción. Nuestro grupo ha desarrollado un candidato vacunal para el cáncer denominado CIGB-247, basado en un antígeno representativo del VEGF humano, en combinación con VSSP. La vacunación induce efectos antitumorales y antimetastásicos en diferentes modelos de tumor en ratón, en los cuales están involucrados la inmunidad humoral y celular. **Objetivo.** Ampliar los estudios de inmunogenicidad y seguridad con esta vacuna en monos verdes africanos, donde la homología es de un 99% con respecto al VEGF humano. **Resultados.** Se evaluó el efecto de la vacunación bajo esquemas semanales y quincenales, con y sin montanide y dosis únicas de 100 µg de antígeno. Además, se evaluó el efecto de escalado de dosis desde 100 a 400 µg de antígeno, sin montanide. La vacunación con CIGB-247 indujo una respuesta de anticuerpos específicos para el VEGF, con actividad bloqueadora de la interacción de este con su receptor 2, que se incrementa significativamente después del *booster*. Los PBMC aislados de todos los animales inmunizados demostraron actividad citotóxica contra células autólogas cargadas con el antígeno. También se detectó reacción DTH positiva al VEGF humano. La vacunación no afectó el proceso de cicatrización de heridas profundas en la piel. La evaluación de los parámetros bioquímicos y hematológicos de los animales no demostró la existencia de patologías hepáticas o renales asociadas a la vacunación. **Conclusiones.** Los resultados experimentales avalan que la administración de esta vacuna es segura en esta especie de primates no humanos y produce una ruptura a la tolerancia B y T para este autoantígeno.

IV-3 Valoración del estado clínico nutricional e inmunológica en el paciente politraumatizado. M Rodríguez*, A del C Sin Mayor, M García, M Díaz, S Martínez, R Muñoz, O Matos. Laboratorio de Inmunología. Hosp. "Luís Díaz Soto", La Habana, Cuba. *mireida.rodriguez@infomed.sld.cu

Introducción. El trauma es una de las principales causas de muerte en la población menor de 50 años en todo el mundo. Los pacientes fallecen como consecuencia directa de las lesiones múltiples y por el daño que subsecuentemente

provoca las reacciones inmunitarias. **Objetivo.** Evaluar el estado clínico nutricional e inmunológico en lesionados por trauma. **Resultados.** Demostraron que el recuento de células CD3+, CD4+, CD8+ y CD19+ estuvieron marcadamente disminuidas entre los lesionados fallecidos, no así en los sobrevivientes a partir de las primeras 24 horas del trauma. Se observó un retardo significativo en el índice opsonofagocítico en los lesionados fallecidos, con respecto al resto de la población estudiada, por lo que quedó demostrado el papel del proceso opsonofagocítico en la aparición y desarrollo de complicaciones mortales en estos pacientes. Existió una depresión inicial de los niveles del tercer componente del complemento asociado a la magnitud, extensión y cuantía de las lesiones, así mismo los niveles de Proteína C Reactiva se elevaron por encima de los valores de referencia entre los pacientes que no lograron sobrevivir al término de la investigación, demostrando la veracidad de que esta proteína de fase aguda puede representar un factor predictivo de severidad en estos pacientes. No se detectaron variaciones en los niveles de inmunoglobulinas (G, A, M), el componente cuarto del sistema del complemento, complemento hemolítico total, proteínas totales y concentraciones séricas de albúmina. **Conclusiones.** Estos resultados reafirman la importancia del empleo precoz de modificadores de la respuesta inmunitaria en la reducción de la morbilidad de estos casos.

IV-4 Ocurrencia de las mutaciones factor V de Leiden y G20210A del gen de la protrombina en individuos sanos y pacientes cubanos con trombofilias. K Casanueva*, J Mato, R Ferreira, G Pantaleon, W Torres. Hosp. Hnos. Ameijeiras. La Habana, Cuba. *kcasanv@infomed.sld.cu

Introducción. El desarrollo de un evento trombótico es el resultado final de la interacción de diferentes componentes genéticos o ambientales. Entre los marcadores genéticos más estudiados que predisponen a los eventos trombóticos se incluyen la mutación Factor V de Leiden y el polimorfismo G20210A en el gen de la protrombina. **Objetivos.** Evaluar la frecuencia de la mutación Factor V de Leiden y el polimorfismo G20210A en el gen de la protrombina en nuestra población normal, así como en pacientes cubanos con trombofilias para explorar su contribución a la etiopatogenia de estas enfermedades en Cuba. **Resultados.** Para evaluar la frecuencia poblacional de ambas mutaciones se estudiaron 100 individuos sanos. En adición, se determinó la ocurrencia de los polimorfismos en 272 pacientes con trombofilias. La metodología empleada para la detección de las mutaciones fue el PCR-RFLP. La mutación factor V de Leiden fue encontrada en un individuo de la población sana (2%) y en 31 pacientes trombofílicos (11,39%). A su vez, 20 pacientes (7,35%) resultaron positivos para la mutación G20210A en el gen de la protrombina, sin embargo, no se detectó dicha mutación en la población sana. **Conclusión.** Estos resultados sugieren un posible papel de estos polimorfismos como factores genéticos de riesgo de patologías trombóticas en la población cubana.

IV-5 Estudio de la asociación de los alelos HLA-DQB1*02 y HLA-DQB1*03 con la enfermedad celíaca en pacientes cubanos. Z Martínez*, S Torres, F Calzadilla, I García, K Casanueva, S Santana, G Noa, Y Hernández, C Domínguez. Hosp. Hnos. Ameijeiras, La Habana, Cuba. *genetica@hha.sld.cu

Introducción. La enfermedad celíaca (EC) es una patología autoinmune que se observa en individuos genéticamente predispuestos que se caracteriza por la intolerancia a determinadas proteínas llamadas gluten (gliadinas y gluteínas) que se encuentran en el trigo, el centeno y la cebada. Existe una asociación del sistema HLA y la enfermedad celíaca (HLA-DQB1*02 /HLA-DQB1*03). Existen escasos estudios de autores cubanos acerca de la asociación HLA/enfermedad celíaca. **Objetivo.** Analizar el comportamiento de los alelos DQB1*02 y DQB1*03 en 135 pacientes remitidos por la consulta de gastroenterología con diagnóstico presuntivo de enfermedad celíaca asignado según la presencia de anticuerpos antitransglutaminasa y/o biopsia yeyunal positiva (clasificación MARSH II o III). **Resultados.** Los individuos portadores del alelo DQB1*02 (OR: 5,34) son más susceptibles de padecer la enfermedad que los no portadores, que el 83% de nuestros pacientes celíacos presentan el alelo HLA-DQB1*02 y el 6% el alelo HLA-DQB1*03. Se observaron mayores porcentajes de pacientes enfermos pertenecientes a la raza blanca (71%) y de sexo femenino (71%). **Conclusiones:** La asociación HLA/EC en nuestros pacientes fue similar a lo reportado en otras poblaciones. El genotipaje HLA-DQB1*02/HLA-DQB1*03 en pacientes cubanos es de gran utilidad en el diagnóstico de enfermedad celíaca.

IV-6 Probabilidad de encontrar donantes HLA idénticos en familiares no relacionados para posibles trasplantes de células hematopoyéticas. LM Morera*, C Ustariz, M de los A García, RM Lam, AM Guerreiro, P Hernández. IHI, La Habana, Cuba. *luzm.morera@infomed.sld.cu

Introducción. Los trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas se realizan fundamentalmente con donantes hermanos compatibles para el sistema HLA. Muchos pacientes no tienen hermanos o estos no son compatibles para el sistema HLA, comenzando a utilizar el trasplante de donantes no relacionados, por lo que se han creado los registros nacionales e internacionales. **Objetivos.** Estudiar en un periodo de 10 años las familias extendidas (tíos y primos) de pacientes que no tenían hermanos donantes. **Resultados.** Los estudios de histocompatibilidad para el sistema HLA se

realizaron por las técnicas de microlinfotoxicidad descritas por Terasaki. La muestra del estudio estuvo constituida por 21 pacientes, de los cuales se estudiaron 60 tíos y 85 primos. Del total de pacientes estudiados, el 4,08% tuvo al menos un familiar compatible con resultados similares a los reportados en la literatura. **Conclusión.** Dada la importancia de este trabajo por no existir en nuestra población muchas familias con hermanos o hermanas compatibles se debe aumentar el número de muestra.

IV-7 Primeros pasos en el establecimiento de técnicas moleculares para tipificación HLA en estudios de donantes vivos. D Barbería*, A Brito, Y Trujillo, N Peña, N Díaz B, S Arce. INEF, La Habana, Cuba. *deisybtorres@infomed.sld.cu

Introducción. El método más conocido para la determinación de antígenos HLA es la prueba de microlinfocitotoxicidad, sin embargo con el advenimiento de la tecnología PCR, la tipificación del ADN se ha convertido en técnica rutinaria para los laboratorios de inmunología de trasplante. Este método representa gran utilidad sobre el serológico porque acorta el tiempo de procesamiento, simplifica la interpretación de los resultados y debido a la naturaleza sintética de los reactivos de tipificación se ha mejorado la variabilidad entre lotes. **Objetivo.** Establecer la técnica PCR-SSP para tipificación HLA en donante vivo. **Resultados.** Se iniciaron los estudios almacenando la sangre extraída a los pacientes a 4 °C durante diferentes períodos de tiempo, pudiendo estar en estas condiciones hasta 20 días con ligeros cambios en el protocolo de extracción. Se hicieron estudios de concordancia entre serología y biología molecular, cambios en algunos reactivos por el agotamiento de los mismos y en ambos estudios no hubo variación en los resultados finales. Todos estos estudios se hicieron en HLA clase II debido a las dificultades para trabajar con los linfocitos B, por la importancia que estos tienen en la supervivencia del injerto (a mediano y largo plazo) y por los volúmenes de sangre requeridos cuando se trabaja con niños y personas con poco acceso vascular. Después de la adquisición de los kit para clase I y II de baja resolución Olerup SSp HLAA-B-DR-DQ; se hizo oficial la incorporación de tipaje molecular para estudios de donantes vivos relacionados. **Conclusión.** Una vez estandarizado, el laboratorio cuenta con una nueva tecnología.

IV-8 Factores inmunológicos y supervivencia del trasplante renal de donante cadavérico en Ciudad de La Habana, 2006-2008. N Peña*, F Gutiérrez, Y Trujillo, A Brito, N Díaz, D Barbería, A López, L Gámez. Instituto de Nefrología, La Habana, Cuba. *natacha@infomed.sld.cu

Introducción. La inmunología es la base del trasplante renal, la supervivencia del injerto es el marcador esencial de su calidad. **Objetivo.** Realizar un estudio descriptivo, prospectivo, para determinar la relación de los estudios inmunológicos del trasplante con la supervivencia del injerto renal. **Resultados.** Universo constituido por los pacientes trasplantados de donante cadavérico en Ciudad de La Habana, años 2006-2008. Los estudios de histocompatibilidad fueron realizados en el Departamento de Inmunología del INEF. A los pacientes se les siguió durante un año. La información se procesó mediante el programa SPSS versión 15.0. Las curvas de supervivencia fueron estimadas mediante el método de Kaplan Meier. Predominaron los pacientes con edades entre 30 y 49 años (66,0%) y masculinos (60,2%). La supervivencia de primeros trasplantes (74,0%) no difirió significativamente de la de los segundos (68,8%) ($p=0,59$). Los injertos primarios con dos compatibilidades (79,0%) tuvieron una supervivencia superior que los realizados sin compatibilidades (72,7%) ($p=0,93$). Los trasplantes receptor antígeno B8+ y donante antígeno A1+ presentaron, respectivamente, los peores resultados (66,7%) y los más favorables. **Conclusiones.** En Ciudad de La Habana los trasplantados renales de donante cadavérico, durante los años 2006-2008, se caracterizan por encontrarse entre 30 y 49 años de edad y ser masculinos. En ellos, a medida que aumenta la compatibilidad HLA (clase I) los resultados en términos de supervivencia son mejores. Las principales causas de pérdida de los injertos son: sangramiento y rechazo agudo, para los primeros trasplantes y trombosis vascular y órgano nunca funcionando, para los segundos.

IV-9 Evaluación de anticuerpos linfocitotóxicos en pacientes con insuficiencia renal crónica en espera para trasplante renal. A Brito*, Y Trujillo, N Peña, N Díaz, D Barbería, A López, L Gámez, S Arce B. Instituto de Nefrología. La Habana, Cuba. *amparobg@infomed.sld.cu

Introducción. En pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) en lista de espera de un trasplante renal (TR), la existencia de anticuerpos anti-HLA (AcHLA) constituye uno de los problemas más importantes de los servicios de Nefrología, limitando las posibilidades de trasplante y comprometiendo la sobrevida del injerto renal a largo plazo. **Objetivo.** Determinar la presencia de los anticuerpos anti-HLA y clasificar a nuestros pacientes en inmunizados e hiperinmunizados antes del trasplante renal. **Resultados.** La determinación de estos Ac HLA se realiza mediante una prueba cruzada enfrentando el suero de cada paciente en lista de espera para un TR contra un panel de 25 células linfocitarias de donantes previamente tipados para HLA. Esta prueba se realiza periódicamente (3 cortes anuales) para evaluar el porcentaje de reactividad de cada paciente (PRA). Nuestro estudio consta 128 pacientes, en los cuales se determinó la

presencia de Ac HLA, identificando la población de inmunizados o no inmunizados y comparando ambos grupos en cuanto a su distribución por sexo, grupo sanguíneo, transfusiones previas, tiempo en lista de espera, trasplantes previos, diagnóstico etiológico de la IRC y la evaluación del efecto del tratamiento con eritropoyetina (EPO). **Conclusiones.** Constatamos que en los inmunizados predominaron los candidatos a segundo trasplante, quienes recibieron más transfusiones previas y presentaron mayor tiempo en lista de espera. No hubo diferencias en la distribución por sexo, grupo sanguíneo y diagnóstico de la IRC; la distribución de la tasa de AcHLA fue significativa en los pacientes que recibieron inicialmente tratamiento con EPO.

IV-10 Evaluación del método de obtención de células mononucleares de sangre periférica para trasplante de células madre en el Hospital Morón. MA Jacomino*, NI Martín, Y Ascanio, V Lorenzo. Hosp. Roberto Rodríguez Fernández, Morón, Ciego de Ávila, Cuba. *alexsanchez@moron.cav.sld.cu

Introducción. Recientemente se ha hecho evidente el potencial terapéutico de las células madre adultas en el tratamiento de diversas enfermedades y se han evaluado métodos de recolección y procesamiento a partir de sangre periférica movilizada con buena seguridad y efectividad. **Objetivo.** Realizar un estudio preexperimental antes después, con la finalidad de evaluar el método de obtención de células mononucleares (CMN) de sangre periférica para trasplante de células madre. **Resultados.** El universo estuvo constituido por 41 pacientes con patología ortopédica y angiológica, asistidos en la consulta de Medicina Regenerativa entre marzo y noviembre del 2010. La sangre se procesó en sistemas cerrados, utilizando el Gelofusin como potenciador de la sedimentación. Los pacientes fueron tratados con factor estimulante de colonias granulocítico (FSC-G). Se analizaron las cantidades de células nucleadas y de CMN; la viabilidad celular y el estudio microbiológico, junto a la valoración clínica. El conteo de leucocitos fue superior a $20 \times 10^9/L$ en 37 pacientes; solo 4 casos necesitaron de estimulación adicional. El volumen promedio de los concentrados fue: 102,9 mL, con un contenido medio de leucocitos de $20,2 \times 10^9/L$; el porcentaje de CMN fue de 32,7% y el contenido promedio de CMN del concentrado fue de $5,7 \times 10^9/L$. Se reportaron reacciones adversas en 21 pacientes, dadas por cefalea, dolores óseos y mialgias. **Conclusión.** Demostramos que el método estandarizado en el Instituto de Hematología e Inmunología es un proceder que puede ser empleado en centros de salud como el nuestro, lo que contribuye al desarrollo de la medicina regenerativa en el país.

IV-11 Efecto del anticuerpo monoclonal G-10 en la señalización no genómica mediada por el receptor de progesterona. CM Pereda*, K Frías, T Pons¹, R Blanco², M Cedeño², J Jiménez, N Guillén. INOR; ¹Facultad Biología; UH, ²CIM, La Habana, Cuba. *celiam@infomed.sld.cu

Introducción. El receptor de progesterona (RP) puede ser un mejor indicador que el receptor de estrógeno para predecir respuesta a la terapia con SERMs en las pacientes con cáncer mamario debido a que los niveles de RP reflejan los efectos combinados e integrados del receptor de estrógeno (RE) y actividad de los factores de crecimiento. **Objetivos.** Generar un anticuerpo monoclonal contra el dominio de unión al ADN del RP relacionado con los mecanismos de resistencia a drogas convencionales. **Resultados.** Se diseñaron péptidos por el método de predicción de epitopes inmunogénicos que sirvieron de base para la generación de anticuerpos monoclonales y su efecto en la señalización no genómica en la línea celular tumoral de cáncer de mama T47D fue determinada por el método de Western Blot. El anticuerpo monoclonal obtenido (G10) reconoce de forma específica al RP-Beta y es capaz de inducir un aumento en la fosforilación de STAT 3, así como una ligera disminución en la fosforilación de las MAPK. **Conclusión.** El anticuerpo monoclonal G10 fue capaz de inducir un efecto dosis dependiente sobre la cascada de señalización de las STAT 3 pudiendo ser un marcador interesante en la mejora de la sobrevida de pacientes con diferentes localizaciones tumorales.

IV-12 Evaluación de los efectos inmunomoduladores de la solución CM-95 tratada magnéticamente en ratones Balb/c inoculados con 5-fluoracilo. C Martínez*, V Tamayo¹, P Favier², J Ramón³, R Hernández¹, G Sierra³. Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado. Univ. de Oriente; ¹Hosp. Oncológico Conrado Benítez; ²Facultad de Ciencias Médicas No. 1, Santiago de Cuba; ³Instituto Finlay, La Habana. *clarita@cnea.uo.edu.cu

Introducción. El 5- fluoracilo es un antineoplásico que se utiliza en la quimioterapia del cáncer y posee efectos inmunosupresores al inhibir la proliferación de células del tejido hematopoyético. **Objetivo.** Evaluar el efecto inmunomodulador de la solución CM-95 tratada con campo magnético estático en un modelo con 5-fluoracilo sobre parámetros hematopoyéticos en ratones Balb/c. **Resultados.** Los ratones de 20-22 g de peso y 6 semanas de nacidos, se les inoculó por vía intraperitoneal la solución CM-95 tratada magnéticamente en un esquema de dos dosis; luego se administró por la misma vía el 5-fluoracilo a una dosis de 150 mg/m² de superficie corporal de cada ratón. Los parámetros hematopoyéticos como, conteo total y diferencial de leucocitos fueron evaluados antes de aplicar el antineoplásico y a

los tres y siete días de aplicado este. La celularidad de médula ósea y bazo y la observación microscópica del corte histológico de hígado y bazo por la técnica de inclusión en parafina y tinción con eosina hematoxilina al 10% se evaluaron a los siete días de haber aplicado el 5-fluoracilo. La Solución CM-95 tratada magnéticamente logró modular los efectos del 5-fluoracilo con actividad protectora rehabilitadora, para el conteo de leucocitos de sangre periférica la celularidad de la médula ósea y el bazo y para la estructura histológica del bazo e hígado. **Conclusión.** Estos resultados abren nuevas perspectivas para la aplicación del sistema acuoso tratado magnéticamente como inmunomodulador junto a sustancias que se comportan como antimetabolitos para el tratamiento del cáncer.

IV-13 Actividad inmunorestauradora en ratones Balb/c inmunodeprimidos y citotoxicidad *in vitro* del extracto acuoso de raíz de *Trichilia hirta* L. E Hernández*, A Batista¹, D Portuondo¹, V Tamayo², N Mora³, HJ Morris⁴, CE Martínez⁵. Facultad de Ciencias Naturales, Univ. de Oriente, 1. TOXIMED, 2. Hosp. Oncológico Conrado Benítez, Santiago de Cuba, Cuba, 3. CENIPBI, UCM, Camaguey, 4. CEBI, Univ. de Oriente y 5. CNEA, Santiago de Cuba, Cuba. a.batista@toxi.scu.sld.cu

Introducción. Pacientes bajo tratamiento quimioterapéutico tradicionalmente usan extractos acuosos de raíz de *Trichilia hirta* (Jubabán) en Santiago de Cuba como parte de las terapias alternativas tradicionales. **Objetivo.** Evaluar la actividad inmunorestauradora de extractos acuosos de raíz de *T. hirta* en el modelo farmacológico de inmunosupresión con 5-fluoruracilo en ratones Balb/c y el efecto antitumoral a través de la determinación de la actividad citotóxica *in vitro* en tres líneas de células tumorales. **Resultados.** la administración del extracto acuoso de la raíz de la planta evidenció protección contra la inmunosupresión inducida por el 5-fluoruracilo, al incrementar significativamente los conteos globales y diferenciales de leucocitos, así como el peso del timo y la celularidad de la médula ósea en los ratones inmunodeprimidos. Además, el extracto acuoso (125 ug/mL) mostró citotoxicidad selectiva contra las células tumorales T-47D y SK-mel-3 en comparación con la línea no tumoral (Vero). **Conclusiones.** Los resultados indican que *T. hirta* posee significativos efectos inmunorestauradores *in vivo* y citotoxicidad selectiva, por lo cual podría ser una promisorio alternativa para la terapia del cáncer.

IV-14 Implementación en Cuba del monitoreo de los principales agentes virales que afectan a pacientes receptores de trasplante en edad pediátrica. V Kouri*, C Correa, PA Martínez, A Álvarez, L Pérez, Y Alemán, Y Soto, G González, C Savón, C Silvério¹, N Hondal¹, M González¹, I Álvarez¹, E Dorticós², A Arencibia², M Silva², JC Jaime², S Sarduy², J Florín³, L Pérez³, IP Duran³, JJ Marchena³, L Solar³. IPK; ¹Hosp. William Soler; ²IHI; ³Hosp. Pediátrico de Centro Habana, La Habana, Cuba. *vkouri@ipk.sld.cu

Introducción. En pacientes trasplantados las infecciones virales constituyen una causa importante de morbilidad, rechazo e incluso compromiso a la vida del paciente, especialmente en aquellos de edad pediátrica. **Objetivo.** Estudiar la incidencia y el espectro de infecciones virales en pacientes pediátricos, receptores de trasplante de médula ósea, hígado y riñón, con vistas a implementar un protocolo de seguimiento del paciente trasplantado cubano. **Resultados.** Se estudiaron 215 muestras pertenecientes a 16 pacientes en edad pediátrica trasplantados de hígado (11 pacientes), riñón (3) y médula ósea (2). Se realizó seguimiento por 6 meses comenzando desde el día antes del trasplante mediante PCR en tiempo real simultáneamente en orina, suero, saliva y heces. Los virus estudiados fueron CMV, VEB, VHS, VHH6, VVZ, Adenovirus, Poliomavirus (BKV y JCV). El 87,5% de los receptores tenían Acs previos frente a CMV y EBV, y 75% frente a VHS, lo que indica que estaban infectados con estos virus. Se ha detectado una positividad general de 28,4% (61/215). Las muestras donde se observó mayor excreción viral fueron la saliva (65%), la orina (19%) y el suero (13%). Los virus que principalmente se han detectado y con mayores niveles de cv son CMV (45,9%, 25/61), seguido por VHH6 (32,8%, 20/61) y VEB (26,2%, 16/61). También se ha detectado virus BK, JC, VHS en menor proporción. **Conclusiones.** Es el primer estudio de este tipo en el país, demuestra la elevada activación de las infecciones virales en pacientes trasplantados pediátricos indicando la necesidad de establecer protocolos cubanos de seguimiento de pacientes trasplantados.

IV-15 Transformación secuencial de células madres mesenquimales humanas: su efecto sobre la su inmunogenicidad y potencial inflamatorio. A Miranda*, N del C Sánchez¹, JM Funes², J de León Delgado¹, R Pérez¹. CIM, La Habana, Cuba y ²Instituto de Cáncer de UCL, Londres, RU. *alexm@cim.sld.cu

Introducción. En la actualidad se reconocen al menos 6 propiedades inherentes a los tumores que resultan indispensables para su progresión y que le confieren: ilimitado potencial replicativo; insensibilidad a señales anti-mitóticas; autosuficiencia en señales de crecimiento; propiedades antiapoptóticas, proangiogénicas y prometastásicas. Sin embargo, está aún en discusión el papel de la evasión de la vigilancia inmunológica, así como el de la inflamación relacionada con el cáncer como parte de estas propiedades inherentes a los tumores. **Objetivos.** Obtener un modelo de transformación secuencial

in vitro de células madres mesenquimales humanas (hMSC) para contribuir a discernir el papel de la inmunosupresión y la inflamación en la progresión tumoral. **Resultados.** Con la introducción de cinco alteraciones genéticas en las hMSC, se obtuvieron células tumorales con reducida expresión de MHC1, propiedad que no se revierte por efecto del IFN gamma. Además, estas células muestran propiedades inmunosupresoras sobre la proliferación de los linfocitos T. Confirmamos la influencia de la transformación en la producción de IL1beta, mediador inflamatorio cuya eliminación afecta la tumorigenicidad de las células transformadas. **Conclusiones.** Estos resultados sugieren que aún *in vitro* las alteraciones en la funcionalidad de genes supresores de tumores y oncogenes lleva al desarrollo de un programa genético que reduce la inmunogenicidad de las células tumorales y que estimula la inflamación en el ambiente tumoral, lo que contribuye a la evasión de la inmunovigilancia a los tumores y favorece el microambiente adecuado para el desarrollo de estos.

IV-16 Obtención de un modelo tumoral basado en la transformación secuencial de células madre mesenquimales murinas: su interacción con el sistema inmune. N del Carmen Sánchez*, A Miranda, JM Funes¹, Jde León Delgado, R Pérez. CIM, La Habana, Cuba; ²Instituto de Cáncer de UCL, Londres, RU. *nilda@cim.sld.cu

Introducción. Resulta de gran utilidad contar con un modelo de transformación secuencial de células madre adultas de origen mesenquimal (mMSC) para evaluar el efecto de terapias antitumorales que apuesten por la modificación de las propiedades inmunosupresoras de estas células. **Objetivos.** Aislar mMSC a partir de médula ósea de ratones y someterlas a un proceso secuencial de transformación tumorigénica. **Resultados.** Se obtuvieron y caracterizaron mMSC de ratones C57bl/6. Este estudio incluyó la determinación de sus marcadores moleculares fenotípicos, su capacidad de diferenciación a adipocitos y sus propiedades inmunosupresoras sobre los linfocitos T y las células mieloides. Las mMSC se modificaron genéticamente para afectar la actividad de p53 e incrementar la expresión de una variante mutada del oncogen Ras, obteniéndose una variante tumoral con capacidad de formar colonias en crecimiento libre de anclaje y de formar tumores. Considerando el papel del óxido nítrico en las propiedades inmunosupresoras de las mMSC, se decidió además aislar estas células a partir de animales C57bl/6 *knock-out* del gen que codifica la enzima oxido nítrico sintasa inducible. Esta variante de mMSC también se sometió al proceso de transformación sirviendo como herramienta para determinar la influencia de la transformación tumoral sobre las propiedades inmunosupresoras de estas células. **Conclusión.** Los resultados obtenidos nos confirman que contamos con variantes de mMSC con propiedades similares a las descritas en la literatura y cuya transformación conduce a la generación de un modelo tumoral de importante aplicación.

IV-17 Anticuerpos naturales humanos contra NeuGcGM3: su papel en la inmunovigilancia contra los tumores. N Rodríguez*, DI Martínez, T Griñán, T Rondón, R Pérez, AM Hernández. CIM, La Habana, Cuba. *nely@cim.sld.cu

Introducción. Los gangliósidos N-glicolilados son considerados importantes blancos para la inmunoterapia del cáncer no solo por su expresión diferenciada entre tejidos normales y malignos sino también por sus propiedades inmunosupresoras sobre el sistema inmune. **Objetivos.** Detectar la presencia de anticuerpos anti-NeuGcGM3 con capacidad citotóxica independiente del complemento en sueros de individuos sanos de diferentes grupos etarios. **Resultados.** Se observó que un 62% de los donantes sanos evaluados presentan anticuerpos reactivos por el NeuGcGM3 y un 27% posee la capacidad de reconocer células tumorales que expresan este antígeno. De los 85 sueros analizados, 11 demostraron la capacidad de inducir muerte independiente del complemento en líneas tumorales NeuGcGM3+, mientras que no se observó ninguna reactividad por líneas tumorales NeuGcGM3-, ni frente a linfocitos humanos. Esta muerte celular está mediada por un mecanismo rápido, independiente de la temperatura y de la activación de caspasas; características también descritas para otros anticuerpos anti-NeuGcGM3 como el AcM 14F7 y aquellos inducidos en pacientes vacunados con el AcM anti-idiotípico 1E10. Además, encontramos que existe una disminución con la edad no solo del nivel de respuesta contra el gangliósido sino también del número de individuos que presentan anticuerpos anti-NeuGcGM3 citotóxicos. **Conclusiones.** Se demostró la existencia de anticuerpos anti-NeuGcGM3 con capacidad citotóxica independiente del complemento en sueros de individuos sanos. Los niveles y frecuencia de esta respuesta disminuyen con el avance de la edad de los individuos.

IV-18 El burro como biomodelo para la producción de biológicos. E Sánchez*, G Sierra, A Cádiz, J Menéndez. Instituto "Jorge Dimitrov", Bayamo, Granma, Cuba. *esanchez@dimitrov.cu

Introducción. El burro ha sido utilizado en la obtención de sueros hiperinmunes para el diagnóstico de enfermedades humanas, por sus características de resistencia natural y adaptabilidad. **Objetivos.** Evaluar la sensibilidad y estabilidad del suero de Coombs y obtener anticuerpos de hepatitis viral tipo B contra el antígeno de superficie. **Resultados:** En la hepatitis se obtuvo la gamma hiperinmune, con una actividad biológica de 30×10^6 U/I x L hasta 500×10^3 ; se ha utilizado en el CNGM y el CIGB el anticuerpo de hepatitis B en el ELISA para la determinación de antígeno de superficie; en la

liberación de los lotes finales de la vacuna de hepatitis B se han liberado 335 lotes de IFA con su control de calidad. Los sueros de Coombs alcanzaron concentraciones de 1/64 hasta 1/2048 que permitieron un suero con cantidad para realizar determinaciones en la reacción de Coombs que se usa en el diagnóstico serológico de las enfermedades infecciosas. Se evaluó la sensibilidad y la estabilidad del suero de Coombs, según lo establecido por la metodología de los bancos de sangre para este tipo de reactivo y durante un año lo ha mantenido de forma satisfactoria, mantuvo altas concentraciones de anticuerpos, durante 10 semanas que garantizan grandes volúmenes de sueros, utilizado por los bancos de sangre de las cinco provincias orientales. **Conclusión.** Los sueros cumplen las especificaciones de calidad establecidas para la utilización de estos reactivos biológicos para el diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido y la hepatitis viral tipo B.

IV-19 Tecnología IgY, inmunización de gallinas ponedoras y extracción de anticuerpos de la yema con polietilenglicol. EJ Gutiérrez*, PA Chacana¹, D Pauly², R Schade³. CIM-LABEX, Santiago de Cuba, ¹Instituto de Virología, CICVyA-INTA Castelar, Argentina, ²Robert Koch-Institute, Berlín, Alemania e ³Institut of Pharmacology, Charité-University Medicine of Berlin, Alemania. *esteban@cim.sld.cu

Introducción. Las gallinas se pueden inmunizar mediante vacunaciones intramusculares, con volúmenes de inyección de entre 0,5 y 1,0 mL o con ADN por pistola genética. Dependiendo de la inmunogenicidad del antígeno se pueden alcanzar títulos de IgY específicos muy altos realizando inmunizaciones de refuerzo. Por regla general una gallina es capaz de poner huevos de forma continua durante aproximadamente 72 semanas. **Objetivo.** Describir la extracción de IgY total por el método de precipitación por polietilenglicol e informar sobre el fundamento de la Tecnología IgY. **Resultados.** Se demuestra que la IgY extraída se puede almacenar a -20°C por más de un año; la pureza del extracto es alrededor del 80%, el total de IgY por huevo varía de 40 a 100 mg, y la capacidad de puesta de una gallina/año varía entre 300 y 350 huevos, para un rendimiento del contenido de IgY total por año de hasta 21 g. **Conclusiones.** La producción de anticuerpos en gallinas y la extracción de IgY por el método del polietilenglicol se realizan a un costo muy efectivo y rinde una extraordinaria cantidad de anticuerpos de buena especificidad con títulos altos y estables. Las gallinas son capaces de producir anticuerpos específicos contra antígenos de mamíferos altamente conservados en la filogenia, contrastando con los conejos, por lo que la tecnología IgY nos abre las puertas para su aplicación en propósitos profilácticos y terapéuticos tanto en medicina humana como veterinaria.

IV-20 Efectos inmunobiológicos de la administración oral de un suplemento nutricional de *Pleurotus* en ratones Balb/c inmunocompetentes de ambos sexos. G Llauradó*, HJ Morris, A Guilarte, Y Lebeque, A Gutiérrez, R Fontaine, RC Bermúdez. Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Facultad de Ciencias Naturales, Univ. de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba. *gabriel@cni.ao.edu.cu

Introducción. Estudios preclínicos realizados con suplementos nutricionales de *Pleurotus* han demostrado sus propiedades inmunoestimulantes en biomodelos de inmunodeficiencias secundarias. Sin embargo, los efectos inmunomoduladores de dicho suplemento no han sido explorados aún en ratones inmunocompetentes. **Objetivo.** Evaluar los efectos inmunobiológicos de la administración oral de un suplemento de *Pleurotus* (1000 mg/kg) a ratones Balb/c inmunocompetentes de ambos sexos. **Resultados.** El suplemento incrementó los conteos de leucocitos totales en sangre periférica dentro de los valores normales de la especie ($p=0,0083$), con una respuesta polarizada que evidenció diferencias significativas en las poblaciones de linfocitos y polimorfonucleares en machos y hembras, respectivamente. Si bien no se apreciaron efectos moduladores a nivel de la celularidad esplénica, se observó un aumento en el número de macrófagos peritoneales en las hembras tratadas y en menor grado en los machos ($p=0,046$). El suplemento estimuló la respuesta inmune celular *in vivo*, en términos de inducción de reacción de hipersensibilidad retardada, particularmente en los machos ($p=0,0218$). Con independencia del sexo, los animales tratados con el suplemento de *Pleurotus* no mostraron, a juzgar por las observaciones clínicas y las características anatómicas de los órganos, evidencias que indicaran manifestaciones de toxicidad asociadas a la administración del producto. **Conclusiones.** La administración del preparado de *Pleurotus* durante 14 días por vía oral ejerció, de modo directo o indirecto, efectos inmunobiológicos, que mostraron un comportamiento diferencial en dependencia del sexo de los animales. Se recomienda desarrollar las futuras evaluaciones preclínicas de los efectos inmunobiológicos de suplementos de *Pleurotus* en ratones de ambos sexos.

IV-21 Inmunofluorescencia directa para diagnóstico del virus de la rabia en epizootia canina. MV Cabrera*, MV Soler. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Santiago de Cuba. *mvictoria@medired.scu.sld.cu

Introducción. La vigilancia epidemiológica de enfermedades virales requiere de métodos de diagnóstico disponibles, oportunos y confiables que detecten rápidamente la presencia del virus en una muestra sospechosa. La

inmunofluorescencia directa para diagnóstico de virus de la rabia se basa en la detección de proteínas virales en improntas de hipocampo, cerebelo o médula, por medio de anticuerpos específicos contra esas proteínas, conjugados a fluoresceína. La disponibilidad del ensayo en el Laboratorio de Virología permitió la detección y seguimiento de la epizootia canina ocurrida en Santiago de Cuba durante febrero-junio de 2010. **Objetivo.** Describir los resultados del uso de la inmunofluorescencia directa para diagnóstico del virus rábico en epizootia canina en Santiago de Cuba, durante el 2010. **Resultados.** Se utilizó un conjugado monoclonal antinucleocápside específico para el procesamiento de las muestras. Se trabajaron 161 muestras de caninos, quirópteros, felinos, equinos, porcinos, bovinos y mangostas. Se detectó el 9,3% de muestras positivas. El 100% de los positivos correspondió a caninos del municipio Santiago de Cuba. El Laboratorio Nacional de Referencia de Rabia confirmó el 100% de los resultados. El tiempo de diagnóstico fue de 1,7 días, considerando la recepción, obtención, procesamiento de las muestras y emisión de los resultados. **Conclusiones.** La reintroducción en el 2009 de la inmunofluorescencia directa como sistema de diagnóstico para el virus de la rabia en Santiago de Cuba permitió durante el año 2010 la detección inmediata de muestras positivas y el ejercicio de actividades de prevención y control que evitaron la aparición de rabia humana en el territorio.

IV-22 Caracterización de un biomodelo murino deficiente de apo-E en el desarrollo de la aterosclerosis. A Pérez*, I Beausoleil, DR Morejón, V Brito, L Delgado, AM Vázquez. CIM; ¹ IFAL, La Habana, Cuba. *arlenis@cim.sld.cu

Introducción. Los biomodelos diseñados para el estudio de la aterosclerosis constituyen una herramienta de gran utilidad en investigaciones preclínicas. Las condiciones experimentales introducen cambios que afectan las características morfológicas de la patogenia de la enfermedad. **Objetivo.** Demostrar en nuestras condiciones experimentales la formación de lesiones ateromatosas en el biomodelo murino deficiente de la apolipoproteína E (ApoE^{-/-}), que desarrolla lesiones ateromatosas de forma espontánea y su aplicación en el estudio de agentes terapéuticos. **Resultados.** Para ello se realizaron análisis macro y microscópico de la pared arterial a partir de tinciones especiales en ratones alimentados con dieta hipercolesterolemica. Se realizaron determinaciones bioquímicas de la actividad de las enzimas antioxidantes SOD y CAT y se evaluó el efecto del anticuerpo monoclonal quimérico S3Q, anti-proteoglicanos sulfatados. En nuestras condiciones, los ratones ApoE^{-/-}, desarrollaron las lesiones del biomodelo, caracterizadas por engrosamiento de la capa íntima de la aorta y estrechamiento de su luz. Adicionalmente la administración del S3Q redujo significativamente las dimensiones, distribución y número de las lesiones en la pared arterial y tanto en el grupo que recibió PBS como en el control de isotipo se pudo constatar una hiperactividad de la enzima SOD con respecto al día 0 del experimento, lo cual puede estar relacionado con un incremento en la generación de O₂. **Conclusión.** Estos datos reflejaron las ventajas que proporcionó el uso del biomodelo en las investigaciones preclínicas, constituyendo una mímica de la enfermedad, útil para el estudio de agentes terapéuticos contra la aterosclerosis.

Sesión V. Vacunas y Adyuvantes

Tribunal. Beatriz Tamargo, Reynaldo Acevedo, Darien García y Belkis Romeu

V-1 Caracterización de la especificidad de serotipo de la proteína doble quimérica Dominio III-P64k del virus dengue 4 (PD24). Implicaciones como candidato vacunal contra el dengue. A Izquierdo*, L Lazo¹, A García, L Hermida¹, G Guillén¹ y MG Guzmán. IPK; ¹CIGB, La Habana, Cuba. *alienys@ipk.sld.cu

Introducción. Una vacuna contra el dengue debe ser capaz de inducir una respuesta inmune equivalente a los cuatro serotipos. Nuestro grupo ha obtenido proteínas recombinantes de los cuatro serotipos fusionando el dominio III de la proteína E a la proteína P64k de *N. meningitidis*. Debido a la importancia de la reactividad cruzada asociada a la inmunopatogenia del dengue, la especificidad de estas proteínas fue analizada previamente. Sin embargo la variante de dengue 4 mostró baja inmunogenicidad y capacidad protectora por lo que hemos obtenido una nueva construcción donde el dominio III se ha fusionado dos veces en el contexto de la P64k (PD24). **Objetivos.** Caracterizar la especificidad de serotipo asociada a esta construcción dada la importancia de este fenómeno en la obtención de un candidato seguro contra el dengue. **Resultados.** La especificidad antigénica de PD24 se analizó mediante Dot blot empleando líquidos ascíticos hiperinmunes murinos (LAH), mientras que la especificidad de serotipo de la respuesta de anticuerpos inducida por la proteína fue evaluada a través de ELISA e Inhibición de la hemaglutinación (IH). La proteína recombinante mostró solo reactividad frente a los LAH homólogos e indujo además una respuesta específica de serotipo tanto de anticuerpos totales (ELISA) como funcionales (IH). **Conclusiones.** Podemos concluir que la nueva construcción de dengue 4 mantiene la especificidad de serotipo del resto de las construcciones, por lo que puede ser empleada como candidato vacunal en una formulación tetravalente contra el dengue, con mínimo riesgo de inducir una respuesta inmune patogénica.

V-2 Análisis serológico de la inmunización pasiva-activa en la prevención de la transmisión perinatal de la hepatitis B en Cuba. M Bello*, L de los A Rodríguez, M Nazco, MC Montalvo, S Sario, D Verdasquera, P Pedroso, M Sánchez. IPK, La Habana, Cuba. *marite@ipk.sld.cu

Introducción. La infección por el virus de hepatitis B constituye un problema de salud. La administración conjunta de gammaglobulina anti-hepatitis B y la vacuna se recomienda mundialmente como forma de prevención de la transmisión perinatal en hijos de madres HBsAg(+). **Objetivo.** Evaluar la inmunización pasiva-activa a los tres días, siete y 18 meses de vida, como forma preventiva de transmisión en hijos de madres HBsAg(+). Se estudiaron hijos de madres portadoras de HBsAg, tomados en los tres tiempos, a los que se les administró una dosis de Inmunoglobulina Humana Anti-hepatitis B cubana y una dosis de vacuna recombinante cubana Heberbiovac-HB®, antes de las 12 horas de nacidos y a los 1, 2 y 12 meses. Los niños fueron evaluados con HBsAg y anti-HBs. **Resultados.** Al tercer día el 8,0% de los niños fueron HBsAg(+), el 92,5% de los niños HBsAg(-) resultaron seroprotectidos. A los 7 meses de edad el 1,1% fue HBsAg(+), la seroprotección de los niños HBsAg(-) fue de 89,5%. El 3,4% fue HBsAg(+) a los 18 meses, con un 97,6% de seroprotección en los niños HBsAg(-). Predominó la respuesta normoprotectora en los tres tiempos, con diferencias estadísticamente significativas en la seroprotección y títulos =100 UI/L. **Conclusión.** Estos resultados sugieren que el uso de la Ganmahep-B, conjuntamente con la vacuna cubana reduce el riesgo de transmisión perinatal del VHB. Este es el primer estudio que se realiza en Cuba para evaluar la eficacia profiláctica en este grupo de riesgo.

V-3 Evaluación de la inmunogenicidad de un proteoliposoma de *Mycobacterium smegmatis* como candidato vacunal para la tuberculosis. L Rodríguez*, R Borrero¹, S Fernández¹, G Reyes¹, O Otero¹, C Zayas¹, F Reyes¹, N Álvarez¹, JF Infante¹, N Mohd², R Ochoa¹, ME Sarmientos¹, JL Pérez¹, A Acosta¹. Policlínico Universitario "Dr. Carlos J. Finlay", Colón, Matanzas, Cuba, ¹Instituto Finlay, La Habana, Cuba y ²Univ. Sains Malaysia, Malaysia. *lisetterodriguez.mtz@infomed.sld.cu

Introducción. La tuberculosis continúa siendo una enfermedad infecciosa de elevada prevalencia mundial. La única vacuna disponible para su prevención en humanos es el Bacilo de Calmette Guérin, que sólo protege contra las formas graves de la enfermedad en la infancia. Estudios reportan la capacidad protectora de componentes de la pared celular de *Mycobacterium tuberculosis*, por lo que se obtuvo un proteoliposoma derivado de *M. smegmatis* para ser utilizado como candidato vacunal para la tuberculosis. **Objetivo.** Evaluar potencial inmunogénico y capacidad de inducir reactividad cruzada *in vivo* del proteoliposoma de *Mycobacterium smegmatis* con *M. tuberculosis*, a través de un esquema de inmunización en ratones Balb/c. **Resultados.** Se aplicaron dos formulaciones vacunales, utilizando como adyuvantes: hidróxido de aluminio y adyuvante incompleto de Freund. La respuesta humoral se evaluó mediante ensayos de ELISA y Western Blot y la respuesta celular empleando ensayo de hipersensibilidad retardada. El proteoliposoma en ambas formulaciones indujo una respuesta de anticuerpos IgG significativamente superior al control, resultando superior en el grupo adyuvado con hidróxido de aluminio con un patrón mixto de anticuerpos IgG1 e IgG2a. La respuesta de anticuerpos generada fue capaz de reconocer en forma cruzada un lisado de células completas de *M. tuberculosis* y antígenos presentes en la vacuna BCG. Se obtuvo una respuesta celular cruzada durante el reto con lisado de células completas de *M. tuberculosis*. **Conclusión.** El proteoliposoma derivado de *M. smegmatis* posee antígenos que muestran reactividad cruzada humoral y celular *in vivo* con *M. tuberculosis*, evidenciándose su potencial como candidato vacunal para la tuberculosis.

V-4 Evaluación del suero de Coombs obtenido con un sistema acuoso tratado magnéticamente como adyuvante inmunológico. M Toledano*, C Martínez¹, G Rodríguez, L Andina, Y Romaguera. LABEX y ¹Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado, Univ. de Oriente, Santiago de Cuba. *marlen@cim.sld.cu

Introducción. La comunidad científica ha abordado poco la temática de sistemas acuosos tratados magnéticamente como adyuvantes inmunológicos. **Objetivo.** Evaluar la potencia y el funcionamiento del suero de Coombs (reactivo biológico de gran demanda en bancos de sangre y laboratorios clínicos para el diagnóstico de conflictos Rh) obtenido en conejos Nueva Zelandia Blancos con el uso de la solución CM-95 tratada magnéticamente, en comparación con el adyuvante de Freund. **Resultados.** Al antisero poliespecífico obtenido se le determinó la calidad inmunológica por el título de heteroaglutininas de los grupos sanguíneos A, B y O; de anticuerpos anticomplemento C3b, C3d y C4b y anti IgG antes y después de su purificación por cromatografía de intercambio iónico. El funcionamiento del suero de Coombs se determinó por la técnica de Coombs indirecta en suero de 17 individuos normales y patológicos. La potencia inmunológica para los anticuerpos anti IgG antes de la purificación, arrojó la producción de altos títulos de anticuerpos y a la vez similares o superiores a los obtenidos con el adyuvante de Freund. De las 17 muestras de suero evaluadas, 6 fueron positivas a la prueba de Coombs y 11 negativas, lo que representan el 35,3% y 64,7% respectivamente, coincidiendo con el antisero obtenido con el adyuvante de Freund y el patrón internacional. **Conclusiones.** La Solución

CM-95 tratada magnéticamente resultó ser un adyuvante inmunológico eficaz para la potencia y el funcionamiento del suero de Coombs obtenido en conejos Nueva Zelanda Blancos.

V-5 Propiedades inmunoadyuvantes y baja toxicidad de una clinoptilolita de origen natural en ratones Balb/c.

D Portuondo*, A Batista, V Quattrocchi¹, V Olivera¹, C Langellotti², J Sebastiani², S Digiaco¹, C Mongini², JE Betancourt, E Marcos, P Zamorano¹. TOXIMED, Santiago de Cuba; ¹INTA; ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina. *deivys@toxi.scu.sld.cu

Introducción. La búsqueda de productos naturales con propiedades inmunoadyuvantes, es una prioridad en el campo de la vacunología. **Objetivo.** Evaluar las propiedades inmunoestimulantes inducidas por Cliptox™ (zeolita natural) frente a un antígeno soluble (OVA) y otro particulado (virus de la fiebre aftosa; VFA). **Resultados.** El estudio con OVA, ratones Balb/C (n=5/grupo), recibieron dos dosis subcutáneas a intervalos de 14 días y en el caso de VFA el esquema de inmunización se redujo a un intervalo de 7 días para los grupos (VFACb) (Cliptox/VFACb) y (IMS 802/VFACb), mientras que los restantes grupos recibieron una sola dosis. Al suero obtenido se le determinó el título de anticuerpos antígenos específicos y subclases de IgG a través de Hemoaglutinación pasiva y ELISA. En el sobrenadante de cultivo de esplenocitos estimulados con (VFA), VP1 y Con A se determinó niveles de IL-2, IL-4, IFN γ y TNF α . En ambos esquemas el adyuvante Cliptox™ mostró altos niveles de anticuerpos IgG e indujo preferentemente isotipos IgG1 y IgG2a, así como la presencia de IL-12 y IL-4 del patrón Th1 y Th2 respectivamente, lo que sugiere un amplio espectro de respuesta efectora dependiente de anticuerpos para patógenos intra y extracelular. Se observó en el grupo (FCA/OVA) nódulos subcutáneos en el sitio de la inoculación a la semana de tratados. **Conclusiones.** Estos resultados evidencian un efecto adyuvante de Cliptox™ frente a antígenos de naturaleza distinta y nos alienta a continuar realizando una evaluación más profunda de este producto natural como candidato a adyuvante vacunal.

V-6 Obtención de agregados de los antígenos HBsAg y HbcAg y su caracterización por citometría de flujo.

D Hernández*, J Aguiar, M López, JC Aguiar. CIBB, La Habana, Cuba. *dunia.hernandez@cigb.edu.cu

Introducción. La efectividad de los candidatos terapéuticos en la enfermedad crónica por hepatitis B depende de la generación de una potente respuesta inmune tanto humoral como celular que sea capaz de sobreponerse al estado de tolerancia a los antígenos virales que caracteriza a la enfermedad. Previamente nuestro grupo desarrolló una formulación vacunal terapéutica basada en una mezcla simple de HBsAg y HbcAg. Como resultado de la coadministración de ambos antígenos demostramos un incremento de la respuesta inmune celular y humoral específica al HBsAg. Además, fue posible verificar la presencia de precipitados antigénicos del HBsAg y HbcAg en el candidato vacunal NASVAC. Estos antígenos han sido precipitados por un método que les permite la asociación física del HBsAg y del HbcAg. Consideramos que el reforzamiento en la agregación de ambos antígenos pudiera favorecer la respuesta inmune resultante. **Objetivo.** Obtener agregados de HBsAg y HbcAg mediante un cambio del buffer de dilución que contiene ambos antígenos y variación del pH. **Resultados.** La agregación se pudo demostrar por citometría de flujo que en la medida que aumentamos el tiempo de incubación de la formulación en solución acetato a pH=4 mediante diálisis, se obtiene un incremento del FSC y SSC, parámetros que están relacionados con el tamaño y rugosidad de la partícula, siendo este un método de evaluación de la talla de las partículas que se generan como resultado de la agregación de ambos antígenos. **Conclusión.** La técnica de la variación de pH permitió obtener agregados de HBsAg y HbcAg.

V-7 Obtención y caracterización de potenciales candidatos vacunales contra el virus del dengue basados en las proteínas de la cápsida y el Dominio III de la envoltura de los cuatro serotipos virales.

E Suzarte*, E Marcos, L Hermida, L Lazo, A Izquierdo¹, MG Guzmán¹, Y Romero, G Guillén. CIGB; ¹IPK, La Habana. Cuba. *edith.suzarte@cigb.edu.cu

Introducción. La fiebre del dengue causa anualmente la muerte de 25.000 personas en regiones tropicales y subtropicales, sin la existencia aún de una vacuna eficaz disponible contra esta enfermedad. La inmunogenicidad y serotipo-especificidad del dominio III (DomIII) de la proteína de la envoltura del virus dengue hacen de él un candidato ideal para la inducción de una respuesta inmune humoral potencialmente protectora. De igual manera, la capacidad de generar una respuesta inmune celular protectora de la proteína de la cápsida del dengue, probada en el modelo de encefalitis de ratón, avala a este antígeno como candidato inductor de la rama celular de la respuesta inmune. Las variantes de ambas moléculas fusionadas, correspondientes a los cuatro serotipos virales, constituyen un candidato vacunal prometedor en la inducción de una inmunidad protectora contra dengue, donde la vacuna tetravalente parece ser la única alternativa posible. **Objetivos.** Clonar y expresar las variantes quiméricas DomIII-cápsida y la cápsida por independiente de los cuatro serotipos del virus del dengue bajo las señales de expresión de los vectores pET28a y pQE30 en *E. coli*. **Resultados.** Las proteínas recombinantes se obtuvieron en niveles de expresión aceptables y fueron reconocidas por anticuerpos policlonales anti-

dengue provenientes de ratones y humanos, lo que apunta al correcto plegamiento de la región del dominio III en el contexto de la cápsida. **Conclusión.** Los resultados obtenidos avalan el uso de estas proteínas recombinantes en subsecuentes estudios preclínicos en ratones para demostrar inmunogenicidad y eficacia.

V-8 Optimización del candidato vacunal terapéutico (Nasvac) mediante el estudio de diferentes rutas, dosis y esquemas de inmunizaciones en ratones transgénicos al HBsAg-positivo. H Trujillo*, A Blanco, D García, F Freyre, J Aguilar, Y Lobaina, JC Aguilar. CIGB, La Habana, Cuba. *heidy.trujillo@cigb.edu.cu

Introducción. El HBsAg y HBcAg son los principales antígenos estructurales del virus de la hepatitis B. Ambos son potentes inmunógenos en animales de experimentación y en humanos infectados de forma aguda. Una nueva formulación, basada en la combinación del HBsAg y HBcAg, ha sido desarrollada como un candidato vacunal terapéutico, destinado a inducir una respuesta inmune capaz de controlar la infección. **Objetivo.** Evaluar la inmunogenicidad de la formulación después de inmunizaciones simultáneas por vía intranasal y parenteral usando diferentes esquemas y dosis. **Resultados.** La respuesta humoral y celular generada en sangre y bazo de ratones Tg al HBsAg fue evaluada por ensayos de ELISA y ELISPOT, respectivamente. En un primer experimento se evaluaron dos grupos de ratones inmunizados simultáneamente por vía (IN/SC), uno incluyendo alumina por vía SC y otro sin alumina. Como resultado, no hay evidencia que sugiera que la alumina incrementa la inmunogenicidad del candidato; de hecho el grupo sin alumina induce una respuesta más potente. En un segundo experimento, fueron inmunizados ratones por diferentes rutas mucosales y otros con inmunizaciones simultáneas por vía (IN/SC). Fue demostrado que no hay una mayor respuesta inmune usando múltiples rutas de inmunización. El aumento de la dosis de antígenos indujo una respuesta inmune que fue significativa en el grupo que recibió la dosis más alta. **Conclusión.** En general consideramos que el diseño de formulaciones vacunales que se basen en el efecto adyuvante de los antígenos rHBs y rHBc puede constituir una alternativa a considerar en el campo de la inmunización terapéutica.

V-9 Evaluación inmunológica de una proteína quimérica del virus dengue 4 empleando diferentes adyuvantes. L Lazo*, L Gil, E Marcos, I Valdés, Y Romero, A Blanco y L Hermida. CIGB, La Habana, Cuba. *laura.lazo@cigb.edu.cu

Introducción. La evaluación en modelos animales de los candidatos vacunales constituyen una importante herramienta en el campo biomédico. **Objetivos.** Evaluar formulaciones basadas en la proteína PD24 y diferentes adyuvantes en ratones. Además, incluimos una formulación compuesta por la proteína PD24 y partículas basadas en la proteína de la cápsida del VD2 (PSN2), para las cuales se ha descrito previamente capacidad inmunopotenciadora. **Resultados.** Los ratones inmunizados con las preparaciones vacunales PD24-alúmina, PD24-PSN2-alúmina y PD24-IC31® mostraron títulos de anticuerpos antivirales estadísticamente superiores a la preparación placebo. Tras la estimulación de los esplenocitos con VD4, aquellos provenientes del grupo de ratones inmunizado con la preparación PD24-PSN2-alúmina secretaron niveles de IFN-γ superiores a los detectados en los animales del grupo inmunizado con la proteína PD24 en alúmina. Un comportamiento similar se observó con la preparación vacunal PD24-IC31®. Sin embargo, los niveles de secreción de IFN-γ en este grupo fueron menores estadísticamente que los observados en el grupo inmunizado con la preparación PD24-PSN2-alúmina. En cuanto a la protección conferida tras la inoculación intracraneal de VD4 infeccioso, las formulaciones PD24-alúmina y PD24-IC31® indujeron niveles de protección similares estadísticamente a los inducidos por las formulaciones anteriores pero de igual forma similares al grupo control viral. Un 92% de los ratones inmunizados con la preparación PD24-PSN2-alúmina sobrevivieron al reto, constituyendo niveles de protección estadísticamente similares a los del grupo control positivo y superior al grupo placebo. **Conclusión.** Estas evidencias abren el camino para el empleo de estas partículas como adyuvantes en formulaciones vacunales contra el virus dengue.

V-10 Las partículas semejantes a nucleocápsidas, obtenidas a partir de la proteína recombinante de la cápsida de dengue-2, inducen una inmunidad específica de serotipo y segura en ratones. L Gil*, L Hermida, L Bernardo, A Pavón, I Valdés, L Lazo, E Marcos, Y Romero, MG Guzmán¹, G Guillén. CIGB y ¹IPK, La Habana, Cuba. *lazarogil@cigb.edu.cu

Introducción. El conocimiento de los mecanismos de la respuesta inmune que participan en la defensa contra la infección por el virus dengue es un tópico de gran interés en la actualidad. Nuevas evidencias sugieren que la inmunidad mediada por células contribuye a la protección en diferentes modelos animales, lo cual abre el camino a la búsqueda de un candidato vacunal basado en la generación de este tipo de respuesta. De esta forma se encontró que las partículas semejantes a nucleocápsidas, obtenidas a partir de la proteína recombinante de la cápsida del virus dengue-2, generan una respuesta inmune protectora, dependiente de células CD4⁺ y CD8⁺ secretoras de IFN-γ, sin la inducción de una inmunidad humoral neutralizante. **Objetivo.** Estudiar la especificidad de serotipo y la seguridad de la respuesta inmune generada por este antígeno en ratones. **Resultados.** Se encontró que la inmunización con las partículas indujo una

respuesta inmune con capacidad protectora, en el modelo de encefalitis viral en ratones, solo ante el reto viral homólogo. Adicionalmente, la estimulación *in vitro* con los cuatro serotipos virales de la células del bazo de los animales inmunizados, mostró un patrón de respuesta específico de serotipo, medido por secreción de IFN- γ . De igual forma, la ausencia de TNF- α en el sobrenadante de cultivo de estas células ante la estimulación viral heteróloga, sugirió la generación de una respuesta inmune no patogénica. **Conclusión.** Estos hallazgos sustentan el empleo de las partículas semejantes a nucleocápsidas como futuro candidato vacunal contra el dengue en humanos.

V-11 Efecto adyuvante del polisacárido A de *Neisseria meningitidis* sobre la inmunogenicidad de la proteína recombinante de dengue. L Hermida*, I Valdés, L Gil, L Bernardo¹, A Pavón¹, L Lazo, T Menéndez, Y Romero, MG Guzmán¹, G Guillén. CIGB y ¹IPK, La Habana, Cuba. *lisset.hermida@cigb.edu.cu

Introducción. Uno de los problemas en el desarrollo de candidatos vacunales contra el dengue basados en proteínas recombinantes es la necesidad de potentes adyuvantes para lograr formulaciones con la adecuada inmunogenicidad. Previamente se ha demostrado el efecto adyuvante sobre la respuesta de una proteína recombinante de DEN-2 (PD5) en monos por la adición del polisacárido A (CPS-A) de *N. meningitidis* en la formulación de esta proteína en alúmina. **Objetivos.** Seleccionar la dosis óptima como adyuvante del CPS-A de *N. meningitidis* sobre este antígeno viral. **Resultados.** Se inmunizaron ratones Balb/c con dos formulaciones de la proteína recombinante PD5 (P64k-dominio III de DEN-2) combinada con diferentes concentraciones del CPS-A. Tras la administración de las tres dosis de las formulaciones, los animales inmunizados mostraron niveles similares en la respuesta inmune humoral, en términos de anticuerpos antivirales y neutralizantes. Sin embargo, cuando se evaluó la capacidad de inducir una respuesta inmune celular medida por la capacidad de secretar IFN- γ por los esplenocitos de los animales inmunizados tras la estimulación con el virus homólogo; solo la formulación con 5 μ g del CPS-A mostró niveles de secreción de la citocina antiviral similar a los obtenidos en los animales del grupo control viral. De igual manera, cuando se evaluó la capacidad de inducir protección en el modelo murino de encefalitis viral, nuevamente esta misma formulación indujo una protección significativa en este modelo. **Conclusión.** Estos resultados sustentan el uso de esta dosis para posteriores estudios en ratones empleando el CPS-A como adyuvante para este antígeno heterólogo.

V-12 Nasvac, un novedoso candidato vacunal terapéutico contra la hepatitis B crónica: del laboratorio a las pruebas clínicas. Y Lobaina*, H Trujillo, F Freyre, D García, E Pentón, M López, J Sánchez, A Aguilar, AID Mollineda, J Aguiar, M Al-Mahtab², F Akbar³, V Muzio, JC Aguilar. CIGB, Ciudad Habana, Cuba, ²Bangabundhu Sheikh Mujib Medical University, Dhaka, Bangladesh y ³Toshiba Hospital, Tokio, Japan. *yadira.lobaina@cigb.edu.cu

Introducción. La infección crónica por virus de la hepatitis B continúa siendo un problema de salud en el mundo, reportándose más de 300 millones de casos. Las terapias actuales como el interferón alfa y los análogos de nucleósido son ineficientes en la eliminación del virus, requieren largos periodos de tratamiento y están asociadas a efectos adversos y altos costos. El desarrollo de un candidato vacunal efectivo constituye una opción terapéutica factible en la que se enfocan varios grupos de trabajo en todo el mundo. **Objetivo.** Desarrollar y evaluar un candidato vacunal denominado Nasvac que contiene a los antígenos de la superficie y la nucleocápsida del virus de la hepatitis B, obtenidos por vías recombinantes. **Resultados.** La formulación desarrollada puede ser administrada tanto por vías sistémicas como intranasalmente, demostrando una alta inmunogenicidad en ratones. Es capaz de generar altos títulos de anticuerpos y potentes respuestas linfoproliferativas y de secreción de interferón gamma por células del bazo. En un modelo de ratones transgénicos al antígeno de superficie la administración de Nasvac logra subvertir la tolerancia a dicho antígeno luego de múltiples dosis. Adicionalmente el candidato vacunal ha demostrado su seguridad mediante pruebas preclínicas y toxicológicas. **Conclusiones.** Estos resultados han permitido avanzar a la fase clínica en la cual se han realizado varios estudios que avalan la seguridad del candidato y ofrecen datos preliminares de efectividad en pacientes crónicos.

V-13 Caracterización del perfil de citoquinas en individuos inmunizados con el candidato vacunal terapéutico contra el virus de la hepatitis C, CIGB-230. Y Amador*, J Marante, EE González, L Álvarez, G Martínez, I Guerra, Á Pérez, Z Cinza y S Dueñas. CIGB, La Habana, Cuba. *yalena.amador@cigb.edu.cu

Introducción. La respuesta inmune celular en individuos crónicamente infectados por el virus de la hepatitis C (VHC) tiene un patrón predominantemente Th2 o Th0, mientras que la resolución espontánea y la respuesta efectiva al tratamiento antiviral se asocian a una fuerte y persistente respuesta Th1. **Objetivos.** Estudiar el perfil de secreción de IL-4, IFN- γ e IL-10 en 15 individuos crónicos, tratados fallidamente con IFN- α y Ribavirina, incluidos en un estudio clínico Fase I con el candidato vacunal terapéutico, CIGB-230, antes del tratamiento y 3 y 6 meses después del mismo. **Resultados.** La evaluación se realizó mediante ELISA, con muestras de sobrenadante de cultivo de linfocitos de sangre periférica, estimulados durante 48 horas con los antígenos específicos Core, E1, E2 y NS3. La secreción de IFN- γ , detectada solo

en 3 individuos (20%) estuvo restringida contra uno o dos antígenos y no fue sostenida, mientras que en 13 pacientes (86,6%) se detectó una secreción persistente de IL-10 contra varios de los antígenos, con incremento en 3 de ellos. En ningún caso se detectó respuesta de IL-4. **Conclusiones.** Estos resultados muestran que en los individuos infectados por el VHC, no respondedores al tratamiento antiviral, la secreción de IL-10 es predominante contra los antígenos virales. Resultó interesante que los pacientes que redujeron el daño hepático, principalmente la fibrosis, durante el tratamiento con CIGB-230, tuvieron una secreción persistente de IL-10. El impacto de la inmunización terapéutica en el perfil de citoquinas en pacientes VHC-crónicos y su relación con el beneficio clínico es un aspecto relevante a profundizar en futuros estudios.

V-14 Estrategia de sensibilización/refuerzo combinando dos formulaciones basadas en proteínas recombinantes y virus vivo de dengue. I Valdés*, L Hermida, L Gil, J Castro, Y Romero, L Lazo, P Puente, E Marcos, MG Guzmán¹, G Guillén. CIGB y ¹IPK, La Habana, Cuba. *iris.valdes@cigb.edu.cu

Introducción. Los actuales candidatos vacunales contra el dengue se basan en virus vivos atenuados, los cuales son inmunogénicos, pero requieren de varias dosis para lograr la seroconversión a los cuatro serotipos y se realizan en esquemas largos. Estos candidatos pueden ser combinados en estrategias de sensibilización/refuerzo con otros para lograr esquemas condensados siempre que se logren formulaciones con la adecuada inmunogenicidad. **Objetivo.** Probar el concepto de una estrategia de sensibilización/refuerzo heterólogo combinando un virus infectivo de dengue y una proteína recombinante que incluye el dominio III de la proteína de la envoltura del virus. **Resultados.** En este estudio se utilizan dos formulaciones basadas en proteínas recombinantes, la proteína dominio III-cápsida (DomIII-C) o la proteína PD5 combinada con el polisacárido A de *N. meningitidis* (PD5-CPS-A), y se administran en régimen de sensibilización/refuerzo heterólogo en primates no-humanos con el virus vivo de DEN-2. Tras una única dosis con las formulaciones DomIII-C o PD5-CPS-A, se obtuvo un refuerzo en la respuesta de anticuerpos neutralizantes previamente sensibilizada por la infección viral homóloga. Además, en los animales la respuesta inmune humoral observada fue de larga duración y los mismos mostraron respuesta inmune celular a los seis meses de administradas las dosis refuerzo con las proteínas. **Conclusión.** Nuestros resultados sustentan el empleo de estos candidatos para obtener esquemas condensados, incluyendo formulaciones basadas en proteínas recombinantes y virus atenuados de dengue.

V-15 Respuesta inmune humoral inducida en pacientes de cáncer de mama en estadios tempranos de la enfermedad inmunizadas con el preparado vacunal NeuGcGM3/VSP/Montanide VG. A Valdés*, V Mulens, Z González, K Pérez, LE Fernández, T Crombet, Z Mazorra. CIM, Habana, Cuba. *anet@cim.sld.cu

Introducción: Un ensayo clínico Fase III, multicéntrico, cerrado, a doble ciegos y controlado fue desarrollado en pacientes con cáncer de mama en estadios tempranos de la enfermedad que fueron inmunizadas con la vacuna compuesta por el gangliósido NeuGcGM3, insertado en un proteoliposoma de *N. meningitidis* y adyuvada con Montanide VG. Luego de la primera línea de quimioterapia las pacientes fueron aleatorizadas 1:1 en dos brazos inmunoterapéuticos para recibir el preparado vacunal o placebo, y estratificadas según el número de ganglios positivos. **Objetivo.** Evaluar la inmunogenicidad de la vacuna. **Resultados.** Altos títulos de anticuerpos de isotipo IgG, IgM e IgA contra el NeuGcGM3 fueron detectados en las pacientes del brazo I de ambos estratos, en comparación con las del brazo II. Estos anticuerpos fueron específicos contra el NeuGcGM3 toda vez que no se verificó respuesta de anticuerpos contra otros gangliósidos como GM3, GD1a y GM1. La presencia de inmunoglobulinas IgM contra el NeuGcGM3 y el GM3 en el día preinmune predice una mejor respuesta inmunológica de isotipo IgM contra este gangliósido. Los anticuerpos fueron capaces de reconocer al NeuGcGM3 *in vivo*, lo que se evidenció por el reconocimiento de la línea de linfoma murino L1210 que expresa elevados niveles del NeuGcGM3. Interesantemente se verificó un incremento de los niveles séricos de IFN- γ en las pacientes del brazo I del estrato 1. **Conclusiones.** Las pacientes del brazo I mostraron altos títulos de anticuerpos específicos contra el NeuGcGM3, independientemente del estrato, que fueron capaces de reconocer al NeuGcGM3 en el contexto de la membrana plasmática.

V-16 Modelación matemática del efecto de terapias moduladoras de IL-2. K García*, K León. CIM, La Habana, Cuba. *karina@cim.sld.cu

Introducción. Resultados publicados en la literatura revelan efectos contradictorios, obtenidos al aplicar tratamientos dirigidos a modular la actividad de la IL-2 *in vivo*. Los mismos muestran como la misma terapia es capaz de promover indistintamente inmunidad o tolerancia, en función del contexto específico, la dosis, y el momento de su aplicación. Esta complejidad en la respuesta pudiera derivar del papel dual de la IL-2 en la dinámica de las células T. **Objetivos.** Para abordar teóricamente esta última posibilidad, desarrollamos un modelo matemático para la dinámica de las células T cooperadoras, reguladoras y de memoria, en el cual se toman en cuenta las interacciones descritas para la IL-2 con

estas células. En este modelo, se simula el efecto de tres tipos de terapias: adición de IL-2, depleción de IL-2 usando anticuerpos anti-IL-2, adición de inmunocomplejos IL-2/Acs anti-IL-2, y adición de muteínas de IL-2. Estudiamos las condiciones cualitativas y cuantitativas de dosis y esquema de tratamiento en el cual estas terapias son capaces de potenciar inmunidad o tolerancia. **Resultados.** Nuestros resultados predicen que: a) Inmunocomplejos IL-2/Acs anti-IL-2, usando Acs que bloqueen la interacción de la IL-2 con la cadena alpha del IL2R, es la mejor opción para potenciar inmunidad; b) Inmunocomplejos IL-2/Acs anti-IL-2, usando Acs que bloqueen la interacción de la IL-2 con la cadena beta del IL2R, es la mejor opción para reforzar tolerancia natural pre-existente; c) Acs anti-IL-2 son efectivos para tratar enfermedades autoinmunes, induciendo el reestablecimiento de tolerancia; d) Muteínas de IL-2 pueden resultar en una nueva estrategia para potenciar inmunidad. **Conclusiones.** Los resultados obtenidos brindan explicaciones razonables a resultados existentes en preclínica y clínica. Adicionalmente, permiten proponer nuevos esquemas para optimizar la aplicación futura de estos tratamientos.

V-17 Efecto sinérgico de la leucopenia inducida por la quimioterapia y un adyuvante portador de GM-3 en su estructura, en la inducción de una respuesta CTL. L Oliver*, A Fernández, M Clavel, LE Fernández, C Mesa. CIM, La Habana, Cuba. *lilianao@cim.sld.cu

Introducción. La combinación de la quimioterapia y la inmunoterapia en el tratamiento del cáncer ha sido ampliamente estudiada en los últimos años. Las vacunas de cáncer requieren adyuvantes capaces de potenciar una respuesta inmune en individuos inmunocomprometidos por la presencia del tumor y por el efecto linfopénico y mielosupresor de la quimioterapia. El VSSP (del inglés "very small size proteoliposomes") es un efectivo adyuvante, agonista del TLR2 y TLR4 desarrollado en el Centro de Inmunología Molecular. **Objetivo.** Evaluar el efecto del VSSP en ratones con severa linfopenia y mielosupresión inducida por la ciclofosfamida. **Resultados.** En este sistema, se demostró que la capacidad del VSSP de inducir una respuesta CTL antígeno específica no se afecta en con la ciclofosfamida, a diferencia de lo que ocurre con otros adyuvantes como el P(I:C). El VSSP acelera la recuperación del número de leucocitos en animales linfopénicos producto del tratamiento con ciclofosfamida. El VSSP potenció los linfocitos T CD8+, con un fenotipo de memoria (CD8+CD44high) y las células dendríticas CD11b+ en ratones tratados con Ciclofosfamida. Las células mieloides supresoras derivadas de la médula ósea (MDSCs) fueron las más expandidas, sin embargo, poseen una menor capacidad supresora que las inducidas por la ciclofosfamida. La respuesta CTL inducida por el P(I:C) se afecta con la ciclofosfamida, el tratamiento con el VSSP provoca un aumento en esta respuesta. **Conclusiones.** Estos resultados sugieren que el VSSP podría ser un adyuvante peculiar y un inmunomodulador adecuado para la combinación de quimioterapia y la inmunoterapia activa en el ámbito clínico, particularmente, para las vacunas CTL.

V-18 Encapsulación de Sticholisinas en liposomas para la potenciación de la respuesta inmune celular. RJ Laborde*, O Sánchez, M del C Luzardo, Y Cruz, L Canet, A Valle, L Oliver¹, A Fernández¹, Y Bebelagua¹, Y Álvarez, C Mesa¹, F Pazos, M Tejuca, C Álvarez, ME Alonso, LE Fernández¹, ME Lanio. Univ. de la Habana y ¹CIM, La Habana, Cuba. *radylq@fbio.uh.cu

Introducción. Numerosas estrategias prometedoras, dirigidas a mejorar la respuesta de linfocitos T CD8+ citotóxicos (CTL) específicos al antígeno, han empleado la coencapsulación en liposomas de toxinas bacterianas formadoras de poro con el antígeno de interés. Las Sticholisinas (StI y StII), citolisinas de la anémona de mar *Stichodactyla helianthus*, son proteínas formadoras de poro de 20 kDa. **Objetivo.** Debido a la homología funcional que existe entre las Sts y las toxinas bacterianas formadoras de poro, nos propusimos estudiar la habilidad de las Sts encapsuladas en liposomas de estimular respuestas CTL específicas al antígeno. **Resultados.** Se emplearon vesículas compuestas de dipalmitoilfosfatidilcolina y colesterol que encapsulaban ovo-albúmina (OVA) como antígeno modelo y contenían o no Sts. La respuesta inmune antígeno-específica se estudió en ratones C57BL/6, y se realizaron ensayos CTL *in vivo* y de respuesta de anticuerpos. La encapsulación de las Sts en los liposomas potenció significativamente la actividad CTL específica a OVA, y mantuvo similar respuesta de anticuerpos anti-OVA, en comparación con los liposomas que contenían OVA solamente. De forma interesante se observó que la actividad CTL inducida por liposomas-St fue independiente de las células T CD4+. Además, liposomas que contenían OVA y StII confirieron protección a ratones que se retaron con células tumorales que expresaban antígenos de OVA, y mostraron capacidad de activar células dendríticas en ensayos *in vitro*. **Conclusión.** Nuestros resultados sugieren las propiedades inmunomoduladoras de los liposomas que encapsulan Sts, y sus potencialidades como una herramienta novedosa para activar respuestas inmunes celulares, claves en la inmunidad contra tumores.

V-19 Las Células B-1 potencian la respuesta inmune inducida por antígenos encapsulados en liposomas de dipalmitoilfosfatidilcolina: colesterol. Y Cruz, Y Machado¹, O Sánchez, MC Luzardo, L Canet, RJ Laborde*, A López¹, L Oliver¹, JF Santo¹, A Castillo¹, KR de la Luz, ME Alonso, C Álvarez, R Pérez¹, ME Lanio. Universidad de La Habana y ¹CIM, La Habana, Cuba. *radylq@fbio.uh.cu

Introducción. En el estudio de liposomas como adyuvantes, la interacción de vesículas de fosfatidilcolina (PC) con células dendríticas y macrófagos ha sido demostrada. Aunque existe una subpoblación de linfocitos B-1 con especificidad por PC, su interacción con liposomas de esta composición no ha sido investigada. Los linfocitos B-1, subpoblación presente en cavidad peritoneal y pleural, se diferencian fenotípica, ontogénica y funcionalmente de las células B-2 convencionales. **Objetivos.** Determinar la influencia de las células B-1 en la inmunoadyuvancia de los liposomas de dipalmitoilfosfatidilcolina y colesterol que encapsulan ovalbúmina (Lp DPPC/OVA), y su dependencia de la composición lipídica liposomal; mediante la evaluación de la respuesta humoral en ratones BALB/c y deficientes de células B-1 (BALB/xid). **Resultados.** Los anticuerpos OVA y DPPC específicos inducidos por el Lp DPPC/OVA fueron significativamente superiores en ratones BALB/c en comparación con los inducidos en BALB/xid, demostrando la participación de las células B-1 en la potenciación de la respuesta inducida por Lp DPPC/OVA. Para estudiar la influencia de la composición lipídica liposomal sobre las células B-, ratones BALB/c fueron inmunizados con OVA encapsulada en liposomas de Dipalmitoilfosfatidilglicerol: Colesterol (Lp DPPG/OVA) o Lp DPPC/OVA empleando PBS/OVA como control. Sólo los Lp DPPC/OVA indujeron títulos de IgG, IgG1 e IgG2a superiores al control, incrementaron las células B-1a y disminuyeron las células B-1b en la cavidad peritoneal, a diferencia del Lp DPPG/OVA y el PBS/OVA. **Conclusiones.** Las células B-1 contribuyen al efecto inmunoadyuvante de liposomas que contienen PC, característica que depende de la presencia de fosfocolina en composición lipídica liposomal.

7th Congress of Immunology

Neisseria Vaccines and Adjuvants Workshop

May 29 to June 3, 2011, Varadero, Cuba

General Program

Day	Morning		Afternoon		Night		
May 29	Arriving to Sol Sirenas Coral Hotel and Registration				Opening Ceremony		
May 30	KNA 1, 2	Symposium I.1 Pathogenesis and immune response	LUNCH	KNA 3	Symposium I.2 Pathogenesis and immune response	DINNER	Poster Session
May 31	KNA 4	Symposium II Meningococcal vaccines		KNA 5	Symposium III Correlates of protection		Cuban film exhibition
June 1	KNA 6	Symposium IV New Strategies for Vaccines and Adjuvants to <i>Neisseria</i>		KNA 7, 8	Symposium V Gonococcal Vaccines		
June 2	KNA 9	Symposium VI Vaccines for Africa		Closing Ceremony			
June 3	Bilateral meetings			Check out			

KNA, keynote address, 30 min; **Oral presentation**, 15-25 min; **SOP**, short oral presentation, 10 min; and ***presenting author**. Every presentation is followed by 5 min discussion.

Oral presentations

Symposium I. *Neisseria* pathogenesis and immune response

Chairs. Mumtaz Virji and Sanjay Ram

KNA 1. An overview of meningococcal pathogenic potential examined using in vitro models: the impact of redundancy of adhesions. NJ Griffiths, DJ Hill, E Borodina, I Murillo, NI Devos¹, CM Feron¹, JT Poolman¹, M Virji*. School of Cellular & Molecular Medicine, University of Bristol, Bristol BS8 1TD, U.K.; ¹GSK Biologicals, B-1330 Rixensart, Belgium. *m.virji@bristol.ac.uk

N. meningitidis dissemination from its site of colonisation may be promoted by certain combinations of host and bacterial factors. Among the host conditions that increase the risk of disease is inflammation following viral or other infections. To assess how inflammation might encourage meningococcal dissemination from the nasopharynx to the vasculature, we have examined meningococcal virulence (cellular interactions, barrier penetration, serum resistance) using a number of model systems to represent host tissues prior to and after inflammation. Meningococcal adhesion to host tissues may occur by direct binding to target receptors (e.g. pili to pilus receptor/s, Opa to CEACAMs) or indirectly involving intermediary molecules (e.g. tri-molecular interactions of Opc-vitronectin-integrins). In response to inflammatory cytokines, the expression of cell surface receptors targeted by meningococci (CEACAMs, integrins) is modulated influencing the levels of meningococcal adhesion to and invasion of target cells. In addition, soluble intermediary target molecules of the host may also be modulated during inflammation. For example, vitronectin becomes increasingly activated and its concentrations may change both in blood and in mucosal environments. Activated vitronectin is targeted by Opc as well as the meningococcal surface fibril, Msf. In doing so, these proteins harness its function of inhibiting the terminal complement membrane attack complex (C5b-9) to reduce bacterial killing. However, while complement resistance may be enhanced in meningococci co-expressing these adhesins, the effect of their co-expression on interactions with cellular integrins appears to be complex. The presentation will focus on meningococcal adhesin-host receptor dynamics in pre- and post-inflammation settings of target cells and tissues.

Accessibility to pili-linked phosphorylcholine of *N. meningitidis* is influenced by phase-variation of the pili-linked glycan, and both factors are required for efficient cell association via the PAF receptor on human airway epithelial cells.

MJ Warren², FE Jen¹, JL Edwards³, BL Schulz², ChE Jones², JT Blanchfield², PM Power⁴, WE Swords⁵, JN Weiser⁶, MA Apicella⁷ and MP Jennings^{*1}. ¹Institute for Glycomics, Griffith University and ²School of Chemistry Molecular Biosciences, Univ. of Queensland, Australia, ³Center for Microbial Pathogenesis, The Research Institute at Nationwide Children's Hospital and the Department of Pediatrics, The Ohio State Univ. USA, ⁴Molecular Infectious Diseases Group, Department of Paediatrics, Weatherall Institute for Molecular Medicine, University of Oxford, UK, ⁵Department of Microbiology, Wake Forest University Health Sciences, Winston-Salem, USA, ⁶Department of Microbiology, University of Pennsylvania School of Medicine, USA, ⁷Department of Microbiology, University of Iowa, USA. *m.jennings@griffith.edu.au

Background. Pili of pathogenic *Neisseria* are major virulence factors associated with adhesion, twitching motility, autoaggregation, and DNA transformation. Pili of *N. meningitidis* are post-translationally modified by several different modifications including the addition of phosphorylcholine (ChoP) and a glycan. Previous work has shown that expression of both the pilin-linked ChoP and glycan are phase-variable (subject to high frequency reversible on/off switching of expression). **Aim.** To determine the location of the ChoP modification and its function in *N. meningitidis* host pathogen interactions. **Results and Conclusion.** We report that the location of ChoP is on the C-terminus of *N. meningitidis* pilin. We demonstrate that accessibility to ChoP is affected by changes to the pilin amino acid sequence and also by changes to the structure of the pilin-linked glycan due to phase variation. We confirm a key role for the pilin-linked glycan and ChoP in adherence to 16HBE14 human bronchial epithelial cells, and identify the platelet activating factor receptor as the key receptor for pilin-mediated cell association in these cells.

Mechanisms of meningococcal biofilm formation: a model for nasopharyngeal colonization.

M Lappann*, T van Alen, H Claus, S Molin¹, Ulrich Vogel. ¹Univ. of Würzburg, Institute for Hygiene and Microbiology, Würzburg, Germany and ²Department of Systems Biology, Technical University of Denmark, Lyngby, Denmark. *mlappann@hygiene.uni-wuerzburg.de

Introduction. Biofilm formation by *N. meningitidis* serves as a model for asymptomatic nasopharyngeal carriage (reviewed by Lappann and Vogel, 2010; Neil and Apicella, 2010). We previously reported on the role of the polysaccharide capsule, twitching motility, and tolerance towards antimicrobial agents in biofilm formation (Lappann *et al.*, 2006). **Objective.** To investigate the impact of extracellular DNA (eDNA) on biofilm formation and to perform proteome analysis. **Results.** eDNA proved to be the key factor for initial biofilm formation of most, but not all clonal lineages, and enhanced fitness in mixed biofilm experiments. eDNA utilization in early biofilms and autolysis served to categorize the meningococcal population into spreaders and settlers by inference from molecular epidemiological data (Lappann *et al.*, 2010). The increase of colonization capacity by the utilization of autolysis released eDNA seems to be a widespread motif among pathogenic bacteria (Lappann and Vogel, 2010). To unravel the adaptation of meningococci to the unique biofilm state, we further conducted proteome analysis (van Alen *et al.*, 2010). Meningococci undergo metabolic adaptation during biofilm formation, e.g. by altered expression of citrate cycle, glycolysis and amino acid metabolism enzymes. Reduced expression of the outer membrane proteins Opa, Opc, and FetA suggest reduced binding of the "feast or famine" regulator AsnC. MntC, which is involved in manganese and zinc uptake, but also in coping oxidative stress, was up-regulated during biofilm formation. **Conclusion.** We hypothesize that meningococci undergo specific metabolic adaptations during biofilm formation, which might influence the host bacteria interaction by alterations of surface protein expression and by up-regulation of immune escape effector mechanisms.

Humanized Mouse models of Meningococcal Infection and Disease. Insights and Applications.

K Johswich, S McCaw, CHF Chan¹, CP Stanners¹, JE Shively² and SD Gray-Owen*. Univ. of Toronto, Canada, ¹McGill University, Québec, Canada, and ²Beckman Research Institute of the City of Hope, California, USA. *scott.gray.owen@utoronto.ca

Background. In vitro studies indicate that *N. meningitidis* Opa proteins bind to carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule (CEACAM) family members. However, the relevance of this interaction for carriage or invasive disease remains elusive. **Aims.** To develop a mouse model with which to understand the specific contribution of human-restricted virulence factors in *N. meningitidis* infection and disease. **Results.** Here, we demonstrate that the four different human CEACAMs that are recognized by the neisserial Opa proteins are expressed in the mice in a manner that faithfully reflects that in humans. The nasopharynx of CEACAM-humanized mice is effectively colonized by *N. meningitidis* for extended durations in an Opa protein-dependent manner. The transgenic animals are also more susceptible to invasive meningococcal infection. Innate immune mechanisms control the bacterial burden during initial colonization and invasive disease, while humoral responses elicited by nasopharyngeal colonization are protective against subsequent infections. **Conclusions.** *N. meningitidis* is exquisitely adapted to life in humans, such that most interactions with the host are specific for the human form of target proteins. Our success in colonizing the CEACAM-humanized mouse has prompted

us to continue 'humanizing' the mouse by incorporating other human-derived genes. Current progress in this regard will be discussed.

The role of the lipid A part of *Neisseria meningitidis* LPS in pathogenesis and immunity. P van der Ley*, F Fransen, C van Els, G van den Dobbelsteen. Department of Vaccinology, National Institute of Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands. *peter.van.der.ley@rivm.nl

Background. Outer membrane vesicle (OMV) vaccines from *N. meningitidis* contain a variety of TLR agonists, such as lipopolysaccharide (TLR4) and lipoproteins (TLR2) which may work as internal adjuvants and thereby determine the adaptive immune response. **Aim.** To investigate the role of TLR activation, we immunized mice deficient in TLR2, TLR4, or TRIF with OMV vaccines. We also investigated the role of TLR4 activation during meningococcal infection, using a mouse model of meningococcal sepsis and *N. meningitidis* mutant strains deficient in TLR4 activation due to underacylated lipid A. **Results.** Readouts after immunization were total IgG titers, IgG subclass distribution, serum bactericidal titers, and PorA-specific T cell responses. The overall immune responses were not lower in TLR2-/- mice but tended to be even higher. In contrast, TRIF-deficient and TLR4-deficient mice showed clearly impaired immunity. Strains with mutations in the *lpxL1* and *lpxL2* genes have penta-acyl lipid A, lacking the secondary C12 chain at the 2' and 2 position, respectively. We showed that the *lpxL2* mutant activates murine TLR4 less efficiently than *lpxL1*, which was again less active than the wild type. Interestingly, we found that the *lpxL2* mutant is more virulent in mice than the wild type strain, whereas the *lpxL1* mutant is actually much less virulent than the wild type strain. **Conclusion.** Our data demonstrate that TLR4 activation contributes to immunogenicity of the *N. meningitidis* OMV vaccine, but that TLR2 activation is not required. We further showed the crucial role of TLR4 activation in determining the outcome of infection with *N. meningitidis*.

KNA 2. An overview of serum resistance mechanisms of *Neisseria gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. S Ram*, J Shaughnessy, S Gulati, S Agarwal, T Dutta, LA Lewis and PA Rice. Division of Infectious Diseases and Immunology, Univ. of Massachusetts Medical Center, USA. *Sanjay.Ram@umassmed.edu

Complement is an important arm of innate immune defenses against *Neisseriae*. Despite their genetic relatedness, gonococci and meningococci have evolved diverse mechanisms to combat complement. Capsule expression is critical for high-level meningococcal serum resistance. Groups B and C capsules decrease alternative pathway (AP) activation, group A capsule does not affect AP activation, but groups W-135 and Y capsules paradoxically enhance AP activation. How capsule, in particular groups W-135 and Y, protects against killing by an intact complement cascade remains undefined. Meningococci bind the AP inhibitor, factor H (fH), through fHbp and NspA, which enhances serum resistance. Gonococci lack a polysaccharide capsule, yet possess intricate mechanisms to escape complement. Gonococci scavenge fH and C4b-binding protein (C4BP; classical pathway inhibitor) through their PorB molecule. Sialylation of gonococcal lacto-N-neotetraose lipooligosaccharide (LOS) augments fH binding. Heptose (Hep) I glycan extensions and the expression of lipid A phosphoethanolamine modulate C4BP binding to and serum resistance of gonococci. Phase-variation of LOS - for example, loss of the terminal HepI GalNAc (*lgtD* "off") - decreases binding of natural IgM antibody and increases serum resistance. Finally, subversive or "blocking" antibodies decrease efficacy of Neisserial killing by specific antibodies. Rmp is the main target for blocking antibody against gonococci, while blocking antibodies against meningococci in convalescent serum are directed against capsule. Recently, antibodies against the pentapeptide repeat motifs of the lipoproteins H.8 and Laz in select normal human sera have been shown to reduce the efficacy of meningococcal killing by specific immune antibody directed against the vaccine candidates fHbp and NspA.

Characterization of factor H binding protein (fHbp) subvariants for surface exposure and ability to bind factor H (fH), induce bactericidal antibodies and mediate serum resistance. KL Seib*, B Brunelli, B Brogioni, E Palumbo, S Bambini, A Muzzi, F DiMarcello, S Marchi, A van der Ende¹, B Arico, S Savino, M Scarselli, M Comanducci, R Rappuoli, MM Giuliani and M Pizza. Novartis Vaccines, Siena, Italy and ²Netherlands Reference Laboratory. *kate.seib@novartis.com

Background and Aim. Meningococcal fHbp binds human fH, enabling downregulation of complement activation on the bacterial surface. fHbp is a component of two MenB vaccines currently in clinical development. Here we characterize 12 fHbp subvariants for their level of surface exposure and ability to bind fH, mediate serum resistance, and induce bactericidal antibodies. **Results and Conclusion.** Flow cytometry and Western analysis revealed that all strains examined expressed fHbp on their surface to different extents and bound fH in an fHbp-dependent manner. Differences in fH binding did not always correlate with the level of fHbp expression, indicating that this is not the only factor affecting the amount of fH bound. To overcome the issue of strain variability in fHbp expression, the MC58?fHbp strain was genetically engineered to express different subvariants from a constitutive heterologous promoter. In these recombinant strains, each subvariant

bound different levels of fH. Surface plasmon resonance revealed differences in the stability of the fHbp-fH complexes ranging over 2 orders of magnitude, indicating that differences in residues between and within variant groups can influence fH binding. Interestingly, the level of survival in human sera of recombinant MC58 strains expressing diverse subvariants did not correlate with the level of fH binding, suggesting that the interaction of fHbp with fH is not the only function of fHbp that influences serum resistance. Furthermore, cross-reactive bactericidal activity was seen within each variant group, although the degree of activity varied, suggesting that amino acid differences within each variant group influence the bactericidal antibody response

KNA 3. Deconvoluting the basis of complement-mediated anti-factor H binding protein (fHbp) bactericidal activity. DM Granoff*. Children's Hospital Oakland Research Institute, Oakland California, USA. *dgranoff@chori.org

Background. Antibodies to fHbp show large differences in magnitude and breadth of complement-mediated bactericidal activity. **Aim.** To identify the role of strain differences in fHbp sequence variability and expression, and anti-fHbp antibody repertoire (particularly the ability to inhibit fH binding) on anti-fHbp bactericidal activity. **Results.** Mutant strains with increased fHbp expression were susceptible to bactericidal activity by mouse antibodies elicited by recombinant fHbp vaccines with diverse sequence variants within a sub-family. In contrast, isogenic mutants or wildtype strains with naturally low to medium fHbp expression were generally resistant to bactericidal activity unless the recombinant fHbp vaccine had a sequence variant that closely matched that of the strain. In human fH transgenic mice, immunization with a mutant recombinant fHbp vaccine that did not bind fH elicited anti-fHbp antibodies with greater inhibition of binding fH to fHbp, and greater bactericidal activity than a recombinant fHbp vaccine that bound fH. In wildtype mice (whose fH does not bind to the vaccine), a more functional anti-fHbp antibody repertoire was achieved by immunization with native OMV vaccines from mutants with increased fHbp expression. **Conclusions.** Relatively sparse exposure of fHbp on the surface of many meningococcal strains limits the ability of IgG anti-fHbp antibodies to engage C1q and activate classical complement pathway bactericidal activity when human fH is bound to the bacteria. More effective fHbp vaccines can be achieved by fHbp antigens that do not bind fH, and/or by presenting the antigen in vesicles, which focuses the antibody repertoire to epitopes that result in fH inhibition.

Immune Response to Variable and Conserved Meningococcal Antigens. JE Heckels*, Molecular Microbiology Group, Division of Infection Inflammation & Immunity, University of Southampton Medical School, Southampton, UK. *jeh@southampton.ac.uk

Background. The pathogenic *Neisseria* (both meningococci and gonococci) show considerable intra- and inter-strain antigenic variation. Hypervariable antigens represent a potential immune avoidance mechanism which may play an important role in pathogenesis and have frustrated attempts at development of effective vaccines, in particular against serogroup B meningococci. Nevertheless repeat infection with meningococci is extremely rare, suggesting that conserved antigens are capable of inducing antibodies which provide a heterologous protective effect. **Aims.** To utilize sera from patients and carriers of meningococci and gonococci to examine the immune response to individual variable and conserved antigens. To identify antigens that enable immune avoidance and identify more conserved antigens that may induce cross protective immunity. **Results.** Immune responses to hypervariable antigens such as pili and Opa are directed against the most variable epitopes and represent a mechanism of immune escape. Similarly antibodies to antigens which vary between strains largely generate type specific immunity but more conserved regions may also induce potentially protective responses. Antibodies to conserved antigens do not necessarily induce protective responses but it is possible to identify some conserved antigens that are associated with the induction of heterologous bactericidal activity against serogroup B meningococci. **Conclusions.** The immune response to meningococci is largely directed against the most variable antigens and their epitopes. Nevertheless potentially protective antibodies to more conserved antigens can be identified. These represent potential targets for vaccine development.

Mucosal immunity to meningococcus following colonisation and vaccination. Ed Clarke*. School of Cellular and Molecular Medicine, University of Bristol, UK. *Ed.Clarke@bristol.ac.uk

N. meningitidis frequently colonises the human nasopharynx while causing invasive disease comparatively rarely. The efficacy of the currently available meningococcal-conjugates vaccines appears to be based, in no small part, on their capacity to prevent not only invasive disease, but also nasopharyngeal colonisation with the bacteria thus, inducing herd immunity in vaccinated populations. In the same way, it is reasonable to imagine that successful vaccination against

serogroup B disease will also require that the vaccines are able to prevent colonisation. Consequently, understanding the factors inducing mucosal immunity against meningococcus may be a key aspect to the generation of new vaccines against the bacteria. Existing work investigating the generation of mucosal and systemic immunity through meningococcal colonisation will be reviewed. Data examining the effects of meningococcal-conjugate and protein based vaccines on nasopharyngeal immunity will then be presented. Novel methods by which to optimise the mucosal immune response generated by meningococcal vaccines must continue to be considered within the ongoing research strategy in this field.

A novel epigenetic regulator associated with the hypervirulent *Neisseria meningitidis* clonal complex 41/44.

KL Seib*, E Pigozzi, A Muzzi, JA Gawthorne¹, I Delany, MP Jennings¹, R Rappuoli. Novartis Vaccines, Siena, Italy, ¹Institute for Glycomics, Griffith University, Queensland, Australia. *kate.seib@novartis.com

Background and Aim. *N. meningitidis* is a major cause of septicemia and meningitis, and the hypervirulent clonal complex 41/44 (cc41/44) has emerged as the predominant cause of serogroup B meningococcal disease, having been responsible for recent outbreaks and epidemics worldwide. **Results and Conclusion.** Here we describe a novel phase variable DNA methyltransferase (ModD), that was identified in an isolate from the New Zealand epidemic and which is predominantly associated with strains of the meningococcal hypervirulent cc41/44. The *modD* gene contains 5'-ACCGA-3' repeats that mediate phase variation, leading to reversible ON/OFF switching of *modD* expression. Phase variation is a common feature of *N. meningitidis* and two phase variable methylases, ModA and ModB, that regulate separate 'phasevarions' (phase variable regulons), have been described to date. Microarray analysis of *modD*-ON/OFF variants revealed that ModD regulates expression of multiple genes involved in colonization, infection and protection against host defenses. The modulation of gene expression via the ModD phasevarion, and its significant association with the cc41/44, suggests a role in the pathogenesis of strains belonging to the cc41/44.

***Neisseria meningitidis* antibody index in vaccinated and non vaccinated patients.**

AJ Dorta*, O Pérez¹. LABCEL and

¹Finlay Institute, Havana, Cuba. *adorta@infomed.sld.cu

Introduction. In the frame of actual quantitative cerebrospinal fluid (CSF) routine analysis, it is possible to detect very sensitive the intrathecal synthesis of specific antibodies by the use of antibody index. It represents the ratio between CSF/serum specific IgG and the CSF/serum total IgG. An antibody index value over 1,5 indicated the causative agent. The Cuban meningococcal vaccine VA-MENGOC-BC® was introduced in the vaccination schedule since 1991 in newborns with coverage higher than 95%. **Objective.** To discriminate the vaccine effect of Cuban meningococcal vaccine in vaccinees suffering from meningoencephalitis different from *N. meningitidis*. **Results.** High antibody index values against *N. meningitidis* is observed in 17 non vaccinated patients suffering *N. meningitidis* meningoencephalitis (mean, 5,4). This contrast with vaccinees suffering *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* meningoencephalitis where the antibody index values are lower (mean, 0,8 and 0,7, respectively) but higher than patients with febrile seizures (mean, 0,1). **Conclusions.** *N. meningitidis* antibody index could be used to evaluate the effect of specific vaccination on the memory intrathecal immune response.

Symposium II. Meningococcal Vaccines

Chairs. Johan Holst and Philipp Oster

KNA 4. Norwegian isolates for evaluation of a protein based vaccine directed against serogroup B meningococcal disease; aiming for broad coverage.

J Holst^{1*}, M Comanducci², M Giuliani², S Bambini², A Genovese², L Stefani², A Muzzi², SComandi², B Brunelli², J Donnelly², M Pizzà², R Rappuoli², DA Caugant^{1,3}. ¹Division of Infectious Diseases Control, NIPH, Oslo, Norway, ²Novartis Vaccines and Diagnostics, Siena, ITALY. ³Section for International Health, Faculty of Medicine, University of Oslo, Oslo, Norway. *johan.holst@fhi.no

The study of vaccine component sequence variability and distribution among isolates from different epidemiological situations is a key step for evaluation of protein-based vaccines intended for broad coverage. The distribution and sequence variation of the genes coding for five recombinant antigens (NadA; NHBA; fHbp; GNA1030; GNA2091) included in a multi-component meningococcal serogroup B (4CMenB) vaccine, was assessed. The variability was traced in isolates from well characterized Norwegian epidemiological situations; one endemic period with low incidence of meningococcal disease and another from a serogroup B outbreak. In spite of high diversity of the genes coding for the vaccine antigens under consideration, the sequence match for 4CMenB vaccine holds good promise regarding potential coverage. Best match

was found among the MenB isolates (72-95% in the endemic period). However, the vaccine is likely to be protective against a high number of strains belonging to other serogroups as well (56-95%). Antigen expression and accessibility on the bacterial surface was evaluated by FACS analysis. However, this gives only a rough indication of the amount of antigen expressed by each strain. MATS analysis will be needed for a more appropriate estimate of the real vaccine coverage and protective potential in various clinical situations.

Immunogenicity and Safety of A Quadrivalent Meningococcal Polysaccharide Diphtheria Toxoid Conjugate Vaccine in Infants and Toddlers. P Oster*, M Pina¹, VC Hou, E Bassily¹, A Reinhardt¹. Sanofi Pasteur SA, Lyon, ¹Sanofi Pasteur Inc., Swiftwater, France. *philipp.oster@sanofipasteur.com

Background and Aims. The highest incidence of meningococcal disease is in children <2 years of age. A phase II study evaluated immunogenicity and tolerability of 2 doses (=3 months apart) of quadrivalent meningococcal polysaccharide diphtheria toxoid conjugated (MCV4) in healthy children =9 months of age. Safety was further examined in a later phase III study. **Materials and Methods.** Participants in the phase II study received 2 doses of MCV4: at ages 9 and 12 months, 9 and 15 months, or 12 and 15 months. A control group of 3–5 year olds received 1 dose of licensed quadrivalent polysaccharide vaccine (MPSV4). Sera, obtained at baseline and 28 days after Dose 2, were assessed by serum bactericidal assay (SBA) with human complement. In the phase III safety study, participants received MCV4 at ages 9 and 12 months. Safety was followed until 6 months postvaccination in both studies. **Results.** The 2-dose MCV4 schedules elicited seroprotective titers =1:8 in 85%–89%, 100%, 94%–96%, and 92%–96% of participants for serogroups A, C, Y, and W-135, respectively, all higher than those observed in the control group. Reactogenicity after MCV4 Dose 2 was comparable to that observed after Dose 1. **Conclusions.** Robust increases in SBA titers against all 4 serogroups after MCV4 Dose 2 exceeded those seen in the group receiving MPSV4. Two MCV4 doses were well tolerated by infants and toddlers.

The multicomponent vaccine against *Neisseria meningitidis* serogroup B: characterization of the antigens and clinical development. D Serruto*, MM Giuliani, M Comanducci, S Bambini, A Muzzi, D Medini, S Savino, B Arico', M Scarselli, JJ Donnelly, R Rappuoli, M Pizza. Novartis Vaccines and Diagnostics, Siena, Italy. *davide.serruto@novartis.com

Background and aim. The genome sequencing of *N. meningitidis* opened a new era in meningococcal research and brought new hope to the development of a serogroup B vaccine. The reverse vaccinology approach identified new protein antigens, named fHbp, NHBA and NadA, that have been included in a multicomponent vaccine named 4CMenB. Since the discovery of the new antigens we focused our research on their functional and immunological characterizations. **Results and Conclusion.** Functional analysis has revealed the role of these proteins in meningococcal pathogenesis while immunological studies revealed the potential of these antigens in generating protective immunity against meningococcus. These data indicate also that combining bactericidal antigens targeting different steps of meningococcal pathogenesis is likely to optimize effectiveness of the 4CMenB vaccine. The discovery of previously unknown protein antigens has generated new challenges because the presence, expression and sequence variability of these antigens are not completely aligned with classical typing systems. Therefore, we proposed a new typing system, named MATS, as a basis for molecular epidemiology studies and evaluation of vaccine coverage. The 4CMenB vaccine has been evaluated in human clinical studies in different age groups. It was administered to adults, toddlers and infants as 3- and 4- dose schedules. Tolerability profile was favorable and immunogenicity, assessed by serum bactericidal assays against indicator strains, was observed in all study populations. In conclusion, 4CMenB targets multiple components and is designed to provide an optimal immune response able to cover the majority of meningococcus B strains.

Estimating the potential strain coverage in Europe of a multicomponent vaccine targeting serogroup B meningococci. J Donnelly, M Giuliani*, D Medini, G Boccadifuoco, M Stella, G Froisi, M Comanducci, S Bambini, A Muzzi, M Pizza, R Rappuoli, J Findlow¹, R Borrow¹, S Gilchrist¹, D Thompson¹, M Ledroit², E Hong², MK Taha², RI Abad³, J Vazquez³, P Mastrantonio⁴, P Stefanelli⁴, C Fazio⁴, A Carannante⁴, J Oksnes⁶, DA Caugant⁵, H Claus⁶, U Vogel⁶. Novartis, Siena, Italy, ¹HPA, Manchester, UK, ²Institut Pasteur, Paris, France, ³Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain; ⁴Istituto Superiore di Sanita, Rome, Italy; ⁵NIPH, Oslo, Norway, and ⁶University of Wurzburg, Wurzburg, Germany. *marzia.giuliani@novartis.com

Background. A multicomponent vaccine (4CMenB) is proposed for prevention of invasive serogroup B (MenB) meningococcal disease. Because MenB clinical isolates are diverse, it is necessary to assess the potential public health impact of 4CMenB. **Aim.** We defined a target population of MenB strains in Europe to estimate strain coverage by 4CMenB. **Results.** To evaluate strain coverage by 4CMenB we used the Meningococcal Antigen Typing System (MATS), which predicts the potential for bactericidal activity of sera from immunized 13-month-olds, based on quantity and crossreactivity with the vaccine-induced immune response of three antigens (factor H binding protein, Neisserial Heparin

Binding Antigen, and Neisserial Adhesin A), and the genotype of a fourth antigen, PorA. As a recent and representative target strain population, we evaluated invasive MenB strains isolated mainly in a single epidemiologic year (July 2007-June 2008) by the national reference laboratories of England and Wales, France, Germany, Norway, and Italy, a total of 1052 strains. Valid MATS results were obtained for 1011/1052 strains and were used to estimate coverage, and were linked to MLST and antigen sequence data. Using MATS, we estimated that 78% of the strains (95% confidence interval 66-91%) would be covered by 4CMenB. Half of the total strains (64% of the covered strains) potentially could be targeted by bactericidal antibodies against more than one antigen. Coverage estimates varied by country and ranged from 73% to 87%. **Conclusion.** 4CMenB has the potential to protect against a significant proportion of the MenB strains that have caused invasive disease recently in Europe.

Potential coverage of the investigational 4CMenB vaccine against group B isolates from England and Wales.

J Findlow*, S Gilchrist, D Thompson, M Stella¹, G Frosi¹, R Borrow. Vaccine Evaluation Unit, HPA, Manchester, UK, and ¹Novartis Vaccines, Siena, Italy. *Jamie.findlow@hpa.org.uk

Background and aim. In Phase I-III trials the investigational four component meningococcal group B vaccine (4CMenB) has proven safe and immunogenic. The vaccine contains three recombinant proteins; factor H binding protein (fHBP), neisserial adhesin A (NadA) and neisserial heparin binding antigen (NHBA) and is formulated with outer membrane vesicles containing the immunodominant PorA protein. To address the issue that protection afforded by 4CMenB will vary dependent upon a combination of antigen expression and cross-reactivity of induced antibody to protein variants the Meningococcal Antigen Typing System (MATS) has been developed. This enables the prediction of the ability of 4CMenB to provide cover against individual isolates. As MenB currently accounts for ~90% of disease in England and Wales, we investigated the potential coverage of 4CMenB using MATS. **Results.** Genetic characterisation of PorA and phenotypic characterisation of recombinant antigens by MATS was completed for all 535 MenB case isolates received at the Health Protection Agency Meningococcal Reference Unit from the epidemiological year 2007/2008. The proportions of isolates with positive MATS phenotype were 63, 1 and 55% for fHBP, NadA and NHBA, respectively. Additionally, 20% of isolates harboured the homologous P1.4 PorA genotype. These data lead to a coverage estimate of 73% (> 1 antigen with a positive MATS phenotype/homologous PorA genotype). Of these covered strains, 69% were positive for more than one antigen. **Conclusion.** 4CMenB has the potential to protect against a significant proportion of MenB disease in England and Wales.

Potential coverage of an investigational meningococcal group B vaccine against non-group B isolates in England and Wales.

J Findlow*, J Lucidarme, S Gilchrist, S Bambini¹, A Muzzi¹, M Comanducci¹, R Borrow. Vaccine Evaluation Unit, HPA, Manchester, UK; ¹Novartis Vaccines, Siena, Italy; *Jamie.findlow@hpa.org.uk

Background and aim. An investigational four component meningococcal group B vaccine (4CMenB) has proven safe and immunogenic in Phase I-III trials. The vaccine contains three recombinant proteins; factor H binding protein (fHBP), neisserial heparin binding antigen (NHBA), and neisserial adhesin A (NadA) formulated with outer membrane vesicles containing the immunodominant PorA protein. As these vaccine proteins are sub-capsular, protection afforded by the vaccine may not be restricted to group B meningococci. We therefore, investigated the potential coverage of 4CMenB against non-group B isolates from England and Wales via genetic characterisation of vaccine proteins. **Results and conclusion.** All non-group B case isolates received at the HPA Meningococcal Reference Unit (n=74) from the epidemiological year 2007/2008 were genetically characterised with respect to multilocus sequence type, fHBP, NHBA, NadA and PorA. Meningococcal strains comprised of groups; A (n=1), 29E (n=2), C (n=16), NG (n=2), W135 (n=24), Y (n=28) and Z (n=1) isolate. Preliminary results demonstrated that all isolates possessed alleles for NHBA and none harboured the homologous PorA P1.4. For fHBP, 27% of isolates harboured the variant 1 alleles (corresponding to the vaccine variant) and for NadA, 18% of isolates harboured *nadA* alleles. Based upon genotypic data and potential cross-reactivity, 4CMenB has the potential to protect against a significant proportion of non-group B disease in England and Wales.

Emerging infections by meningococci serogroup Y in Sweden.

P Olcén*, S Thulin, B Törös, H Fredlund, P Mölling. National Reference Laboratory for Pathogenic Neisseria, University Hospital Örebro, Sweden. *per.olcen@orebroll.se

Background and Aim. The *N. meningitidis* serogroups associated with disease have varying regional distributions over time. In Sweden, serogroup B and C have until 2008 been responsible for the majority of invasive meningococcal disease.

Recently, a substantial increase of serogroup Y has been noted. The aim of the present study was to investigate any clonal patterns of the emerging serogroup Y in Sweden during the last decade. **Results and Conclusion.** All Swedish invasive serogroup Y meningococcal isolates 2000 to 2010 (n=85) were characterized by sequencing the *fetA*, *fHbp*, *penA*, *porA* and *porB* genes and by MLST (<http://pubmlst.org/neisseria/>). The level of discrimination by the different genes was calculated. The recent increase was found to be due to one specific Y clone (n=28) with the completely identical allele combination genosubtype P1.5-2,10-1,36-2; ST 23, cc23; *porB* allele 3-36; *fetA* allele F4-1; *fHbp* allele 25; and *penA* allele 22. This clone (sulphonamide R) was first isolated in 2002 (one case) with one case in 2004, six 2006-2007, eight 2008-2009 and 12 cases in 2010. Increased incidence by the clone was noted in adolescents without increased mortality rate. The highest discriminatory capacity was found using *porA*, *porB* and *fetA* genes (65, 51 and 55% respectively). Further research with additional methods will provide more information about the clone responsible for the emergence of serogroup Y meningococci in Sweden.

II.10 Cuban proteoliposome-based meningococcal vaccine is immunogenic in infants and toddlers, primes for memory and did not induce hyporesponsiveness against C polysaccharide. M Laastre*, B Romeu, C Zayas, J Balboa, M Cuello, O Cabrera, E González, G Sierra, and O Pérez. Finlay Institute, Havana, Cuba. *mlastre@finlay.edu.cu

Introduction. *N. meningitidis* capsular polysaccharides are thymus-independent (TI) type 2 antigens which are poorly immunogenic and not protective in young children. Induction of serogroup C hyporesponsiveness has been observed in different age groups. The fact that conjugate vaccines do not induce this phenomenon suggests be preferred to replace polysaccharides vaccines. Outer membrane vesicle vaccines have demonstrated be successful to control geographically isolated epidemics, but have not been highly immunogenic in young children. The Cuban meningococcal vaccine (VA-MENGOC-BC®), an outer membrane vesicle vaccine (Proteoliposome, PL) from serogroup B and capsular polysaccharide from *N. meningitidis* serogroup C (PsC) adsorbed onto alum have been proved highly efficacious. Objectives. To evaluate the long-lasting memory induced by VA-MENGOC-BC® and to investigate if hyporesponsiveness to serogroup C occurs in human. Results. High anti PsC and anti PL IgG responses were determinate following the administration of two vaccine doses schedule at 3 and 5 months. Anti PL IgG1 predominated after immunization and it was observed in all groups, however anti PsC subclass response was characterized by the induction of high levels of IgG4 and IgG3. Also, high anti PsC and anti PL IgG responses were seen after a 3rd dose of the vaccine in pre-teenagers and after confirmed subclinical infection (carriers) in young adults. Conclusions. VA-MENGOC-BC® is immunogenic in infants and toddlers, also it is capable to induce long-lasting memory and do not induce hyporesponsiveness.

Symposium III. Correlate of Protection

Chairs. Ray Borrow and Marzia Giuliani

KNA 5. A decade of meningococcal glycoconjugate vaccines, what have we learnt? R Borrow*. HPA, Manchester, UK. *ray.borrow@hpa.org.uk

Over a decade has now passed since the introduction of meningococcal serogroup C conjugate (MCC) vaccines into the UK and the annual number of serogroup C cases has fallen by 99%. In November 1999, the UK introduced MCC vaccines for children under 18 years of age with age groups prioritised for receipt of the vaccine beginning in November 1999 and finishing at the end of October 2000. Due to declining antibody persistence and the significant decline in effectiveness in infants a year out from primary 2, 3, 4 month vaccination, the UK serogroup C meningococcal immunisation programme was changed in 2006 to a 3, 4, 12 month schedule. Antibody persistence following the 12 month booster dose has recently been found to be surprising poor, bringing into question whether further booster doses are required. A serosurvey was performed in 2009. Protective levels were moderate (32%) in children on the current schedule. In cohorts that received only infant doses without booster, levels declined markedly after 6 years, suggesting poor antibody persistence. In cohorts eligible for catch-up vaccination, higher levels resulted from school-age and adolescent vaccination, peaking in those vaccinated at 14 years (70%). Vaccine effectiveness following the introduction of Menactra in the USA has been published for serogroup C and Y. This, together with the more rapid waning of antibody in US adolescents than following MCC vaccination in the UK, demonstrates differences between monovalent and quadrivalent conjugate vaccines. These data will be discussed together with that for the new generation quadrivalent conjugate vaccines.

Relevance of antibody-mediated complement binding determined by flow cytometry to serum bactericidal and opsonophagocytosis activity. S Taylor*, C Brookes, M Hudson and A Gorrings. Health Protection Agency, Porton Down, Salisbury, UK. *stephen.taylor@hpa.org.uk

Background. Serum bactericidal activity (SBA) is accepted as a correlate of protection for meningococcal vaccines. However, it is likely that there are additional mechanisms of protection which are important, including opsonophagocytosis (OPA). Both SBA and OPA assays are labour intensive, the SBA requiring large numbers of viable counts performed under contained conditions and the OPA requiring the culture and differentiation of phagocytic cells. We have developed a high-throughput assay, using very small volumes of sera, that simultaneously measures the antibody-mediated deposition of complement components C3c and C5b-9 onto the surface of meningococci. The **aims** of this study are to qualify this assay and determine the relevance of C3c and C5b-9 binding to OPA and SBA respectively. **Results.** Using a panel of mammalian sera and three operators performing multiple assays, the high-throughput OP assay showed a high degree of precision, with a mean total coefficient of variance (cv) of 31% and correlated to a live killing OP assay with 99% confidence ($r = 0.78$). The duplexed antibody-dependent complement deposition assay returned a mean cv of 24% for C3c measurement and 34% for C5b-9 measurement. The complement C3c deposition assay correlated to an OP assay ($r = 0.93$) and the C5b-9 deposition assay correlated with SBA ($r = 0.87$), with 99% confidence. The C3c/C5b-9 cut-off values for functional OPA or SBA activity have been evaluated. **Conclusion.** This high-throughput assay shows promise for analysis of sera from large clinical trials.

Inter-laboratory comparison of the meningococcal serogroup B serum bactericidal antibody assay. X Bai*, A Holland, J Findlow, K Vienken¹, A Kleinschmidt², S Waplington, K Telford, R Borrow. HPA, Manchester, UK, and ¹Novartis Vaccines, Siena, Italy and ²GmbH, Marburg, Germany. *xilian.bai@hpa.org.uk

Background. Different laboratories need to bridge serum bactericidal antibody (SBA) assays to evaluate meningococcal serogroup B candidate vaccine from different trials. To evaluate the immune responses to the novel Novartis vaccine 4CMenB a comparison study was conducted to compare SBA data from clinical trials of 4CMenB between Manchester, Health Protection Agency (MC, HPA) and in Marburg, Novartis (MB, Novartis). **Results.** Pre- and post-vaccination sera ($n=110$) from Phase I (healthy adults) and Phase II (healthy infants) clinical trials of 4CMenB were assayed in the SBA assay using human complement against the same reference strains 44/76-SL, NZ98/254 and 5/99 in both laboratories. Using log2 of interpolated titres, correlation coefficients (r) were 0,914, 0,921, and 0,988 between MC and MB laboratories for strains 44/76-SL, NZ98/254 and 5/99, respectively. No significant differences were found between laboratories when comparing the proportion of subjects with a fourfold rise in SBA titres against strains 44/76-SL, NZ98/254 and 5/99 which occurred for 80%, 71%, and 73% for MC, and 82%, 65% and 75% for MB, respectively. The proportions of subjects with SBA titres ≥ 4 were comparable between MC and MB labs. However SBA GMTs varied between MC and MB for pre-and post vaccination samples, in which MC's GMTs were significantly higher than the MB's GMTs for strains 44/76-SL and NZ98/254. For strain 5/99 no significant differences were found for pre-vaccination samples and lower MC's GMTs than MB's GMTs were obtained for post-vaccination samples. **Conclusion.** The SBA data assay demonstrated a good agreement between the two laboratories.

Comparing the serum bactericidal antibody assay performance of genotypically similar strains within two antigenically distinct meningococcal cc269 lineages. J Lucidarme*, J Findlow, S Waplington, K Nolan, A Holland, X Bai, R Borrow. HPA, Manchester, UK. *jay.lucidarme@hpa.org.uk

Background. The meningococcal group B (MenB) capsular polysaccharide is poorly immunogenic in humans and is unsuitable as a vaccine candidate. Attention has largely focussed on subcapsular antigens in the pursuit of a broadly cross-protective MenB vaccine. The investigational 4CMenB vaccine, comprising fHbp, NHBA, NadA, and PorA P1.4 OMV components, has recently been submitted for licensure under the trade name Bexsero. When assessing immune responses against meningococcal vaccines, the serum bactericidal antibody (SBA) assay is regarded as the gold standard. Several studies have demonstrated that a single immune serum may exhibit variable titers among genotypically and phenotypically similar isolates. Selection of target strains is therefore critical for achieving meaningful results, broadly representative of the corresponding strain in circulation. MenB currently account for approximately 90% of invasive meningococcal disease in England and Wales, where approximately a third of MenB disease is due to the ST-269 clonal complex (cc269). Genotypic surveillance of cc269 in terms of the 4CMenB antigens has revealed the existence of two antigenically distinct lineages centred around ST-269 and ST-275, respectively. **Aim.** To compare the SBA assay performance of six genotypically matched strains from each of the two lineages, using pre and post 4CMenB vaccination sera from 15 adult volunteers. **Results.** Individual serum titers exhibited some differences between genotypically matched strains

belonging to each of the cc269 lineages. **Conclusion.** These findings support the hypothesis that different strain isolates can perform differently in SBA assays with human sera, confirming results of previous studies on OMV vaccines.

Serum specific IgG concentration as predictor of bactericidal and protective activity of purified IgG from adults immunized with the Cuban meningococcal Vaccine. JA Balboa*, L Izquierdo, M Baró, V Casanueva, A Cádiz, AT Ramírez¹, MA Camaraza, M Gutiérrez, A Arnet, A Moya, F Sotolongo, JF Infante, M Fariñas, G Sierra. Finlay Institute and ¹Blood Derivatives Plant, Havana, Cuba. *jbalboa@finlay.edu.cu

Introduction. Specific IgG antibodies and serum bactericidal assay (SBA) have been used to determine immunogenicity of meningococcal vaccines including Outer Membrane Vesicles (OMV) vaccines like the Cuban meningococcal serogroup B vaccine, VAMENGOC-BC®. Nevertheless, predictive value of serum IgG concentration to determine bactericidal and protective activity on purified IgG from plasma pool is unknown. **Objectives.** To correlate SBA and serum anti OMV IgG and to predict bactericidal and protective activity of purified specific IgG from healthy adults immunized with VAMENGOC-BC®. **Results.** OMV-IgG in post-immunization sera showed correlation by linear regression analysis with SBA, but the coefficient ($r=0,62$) do not permit a good prediction. ROC analysis done either for sera with SBA titre to at least 1:16, 1:32, or 1:64, showed specific IgG cut off over 13,4, 15 and 22,5, respectively. Purified IgG from plasma pool immunized volunteers classified by specific IgG concentration >25 U/mL showed at least 1:64 bactericidal titre. Specific IgG over 100 U/mL showed 100% of protection in mice challenged with the homologous strain and significant survival increases with other serogroup B strains. **Conclusions.** SBA titre of 1:64 or high are associated to a good protective activity of the anti-meningococcal IgG, while 25 U/mL is good IgG concentration cut off to obtain purified IgG with high bactericidal activity.

Symposium IV. New Strategies for Vaccines and Adjuvants to *Neisseria*

Chairs. Dan Granoff and Daniel C Stein

KNA 6. Potentialities of *Neisseria meningitidis* Proteoliposome-derived adjuvants. O Pérez*, O Cabrera, C Zayas, M Cuello, J Balboa, E González, B Romeu, RL Solís, M Lastre. Immunology Department, Research Vice-presidency, Finlay Institute, Havana, Cuba. *oliverp@finlay.edu.cu

Introduction. Adjuvants are essential vaccine component that immunopotentiates (IP) the innate immunity, delivers (DS) the antigens to desired places and polarizes (Pz) the adaptive immune response. The adjuvants are not licensed and those are mainly kept by companies to develop their own vaccines and to avoid competitors. Therefore, the development of adjuvants is mandatory to any pharmaceutical company dedicated to vaccine development. **Objective.** To develop the Adjuvant Finlay platform (AFP). **Results.** The AFP consists of a series of Proteoliposome (PL) derived from the bacterial outer membrane and their transformation into Cochleates (Co) named AFPL and AFCo, respectively. They contain several protective proteins (which permit to be used as specific vaccine) and several synergistic microbe-associated molecular patterns (MAMP, which permit to be used as vaccine adjuvant). The most studied are AFPL1 and AFCo1 derived from *N. meningitidis* serogroup B. They contain: LPS, Porins, and trace of bacterial DNA as synergistic IP; a non-living DS based in lipids; LPS as main Pz driving to Th1 and CTL immune responses; particulate as nano- or micro-particles; inducing long-lasting memory response; working in extremes ages, diverse antigens and by parenteral or mucosal routes which permit the development of Single Time Vaccination Strategies. **Conclusion.** AFP seen to be very promissory.

Improved OMV vaccine against *Neisseria meningitidis* using genetically engineered strains and a detergent-free purification process. B van de Waterbeemd*, P van der Ley, B Zomer, J van den IJssel, L van Keulen, L van der Pol. RIVM vaccinology, Process Development department, The Netherlands. *bas.van.de.waterbeemd@rivm.nl

Background and Aim. The use of detergent-extracted outer membrane vesicles (OMVs) is an established approach for vaccine development but has disadvantages, resulting in compromised OMV structure and removal of protective lipoproteins. Detergent-free OMVs are a promising alternative, but retain toxic lipopolysaccharide (LPS) and produce lower yields. **Results.** The RIVM utilized both purification process types on bacterial strains that carried gene mutations for attenuated LPS toxicity (*lpxL1*) and improved yield (*rmpM*). OMVs from a strain with both mutations, made with a detergent-free process provided better characteristics than detergent OMVs. With comparable yield and toxicity, improved OMV structure and highly improved cross-protection in mice, these vaccines could be safe for parenteral use in humans.

Use of surfactant vesicles as a vaccine delivery system to generate antibody against neisserial Lipooligosaccharide. DC Stein*, L Zimmerman, J Park¹, L Stocker¹, P DeShong¹. Departments of Cell Biology and Molecular Genetics and ¹Chemistry and Biochemistry Univ. of Maryland, College Park, MD, USA. *dcstein@umd.edu

Background and Aim. To date, no one has been able to exploit the immunological potential of neisserial lipooligosaccharide (LOS) as a vaccine candidate. We have developed a glycoconjugate vaccine (TRIAD) that contains native LOS derived from *Neisseria gonorrhoeae* F62ΔλgtD (a strain that produces lacto-N-neotetraose LOS and a peptide (PADRE) that possesses the ability to bind to a large number of HLA class II molecules, inserted into a surfactant vesicle. **Results.** TRIAD is a cationic surfactant vesicle formulation and the resulting vesicle is stable at room temperature for years, unlike a typical liposome. TRIAD is so robust that it can be autoclaved without any appreciable loss of structural integrity. Using TRIAD that contained LOS and PADRE at a ratio of 10:1, and immunizing with 2 µg of LOS equivalent, we were able to demonstrate that our vaccine induces a high titer anti-LOS antibody response, with the majority of the elicited antibody being IgG. Intraperitoneal immunization of mice with our vaccine construct produced no observable adverse effects in mice, while intraperitoneal immunization with equivalent amounts of purified LOS induced significant adverse effects. Our surfactant vesicle platform possesses all of the advantages seen with traditional liposome formulations, without any of the inherent problems associated with liposome-mediated vaccines. This vaccine platform readily lends itself to further modifications in that it is possible to include additional neisserial proteins into the vaccine via a novel whole cell extraction protocol. **Conclusion.** We believe that this will allow us to generate a universal vaccine able to protect against all serotypes of *N. meningitidis*.

Modifying PorA to elicit a cross-reactive immune response. I Peak*, Preston Ng, R Horton, L Shewell, M Jennings**. Institute for Glycomics, Griffith University, Australia. **m.jennings@griffith.edu.au

Background and Aim. *N. meningitidis* is a bacterial pathogen that causes meningitis and septicemia. In a few per 100,000 of population, primarily infants and late teens, the organism causes invasive disease. Invasive disease is rapidly progressing, life threatening if untreated, and difficult to diagnose at early stages. The only effective public health response is vaccination. PorA is a major outer membrane protein in *N. meningitidis*. Currently registered vaccines, including the vaccine recently used by the New Zealand government (MenNZB) to eradicate a highly virulent clonal complex 41/44 strain of this pathogen, use PorA as a significant antigen generating the bactericidal immune response that protects against invasive disease. The regions of the PorA that generate this immune response vary from strain to strain, and define distinct serosubtypes. Vaccination with a particular serosubtype vaccine is thought to provide limited protection against strains with heterologous PorA. We have modified the PorA antigen to remove the serosubtype-specific immune response and enhance a cross-reactive immune response, opening the door to reconsideration of PorA as a cross protective vaccine antigen. **Results and Conclusion.** In the current study we have made a range of strains that express the PorA protein with modifications such that key immunogenic variable loops are deleted and replaced with conserved sequences. Particular combinations of conserved sequences replacing variable loop regions elicit a cross-reactive immune response, recognising strains expressing distinct and heterologous PorA types.

fHbp defects and deficiencies, and their consequences, among English and Welsh invasive meningococcal disease isolates. J Lucidarme*, L Tan¹, RM Exley¹, J Findlow, R Borrow and ChM Tang¹, Health Protection Agency, Manchester, United Kingdom, and ¹Imperial College London, London, United Kingdom. *jay.lucidarme@hpa.org.uk

Background. Factor H-binding protein (fHbp) is a meningococcal virulence factor that recruits human factor H (fH) to the bacterial surface, thereby enhancing serum resistance. It is also a component of several meningococcal (in particular group B [MenB]) vaccines, in various stages of development. Genotypic surveillance of fHbp among English and Welsh invasive disease isolates has led to the identification of two distinct frameshift mutations (?T366 and ?A650) among alleles encoding truncated forms of the protein. In addition, a further polymorphism (?fHbp) was identified in which the entire fHbp gene and flanking regions were absent, having been putatively substituted for unrelated *Neisseria lactamica* DNA. ?fHbp and at least one of the frameshift mutations persisted within their respective lineages for at least the past decade. All three polymorphisms were identified among, though not all confined to, MenB isolates. Retention of virulence by fHbp-defective/deficient isolates has potential implications for vaccines containing fHbp. **Aim.** To characterise affected isolates (9x ?T366, 1x ?A650 and 7x ?fHbp), and appropriate controls, in terms of fHbp expression and recruitment of fH. **Results.** None of the affected isolates expressed fHbp. For ?T366 and ?fHbp this was associated with a reduced capacity to bind fH. **Conclusion.** The temporal persistence of invasive MenB lineages that do not express fHbp has implications regarding potential escape from fHbp-containing vaccines. Multi-component vaccines may be less susceptible to such

escape. Retention of virulence in the absence of fH recruitment may be indicative of alternative mechanisms for enhancing the evasion of complement mediated lysis.

Application of combinatorial hexapeptide ligand libraries to peptide-based proteomics. J Gil*, J Noda, Y Masforrol, O Reyes, LJ González, J Fernández, Y Ramos, A Sánchez, L Betancourt, L Castellanos, G Padrón, V Besada. CIGB, Havana, Cuba. *jeovanis.gil@cigb.edu.cu

Background. Combinatorial peptide ligand libraries has been introduced in the proteomic field mainly directed to the equalization of soluble proteins present in fluids, in order to decrease the wide dynamic range in concentration and to improve the detection and further identification of low-abundance proteins. **Aim.** Our propose was the equalization at the peptide level instead of the protein level. **Results.** This approach considerably simplifies the complexity of the analyzed mixture resulting in the identification of a greater number of protein species. The method was applied to the proteomic characterization of a complex sample: the outer membrane vesicles (OMV) from *Neisseria meningitidis* serogroup B. OMVs constitute the ingredient pharmaceutical active of the Cuban vaccine against this pathogen (VA-MENGOC-BC®). This preparation is particularly difficult to analyze for any proteomic technique due to is composed mainly by outer membrane proteins, only five proteins represent more than 70% of the total protein mass and degradation products of the most abundant proteins are present in higher concentration than low-abundance proteins. Generated peptides were incubated in 2 different buffers with the peptide library, peptide fractionation before LC-MS/MS analysis was using RP-HPLC under basic conditions. **Conclusions.** The proposed method is simple, no chemical reactions are required and the peptide mixture is simplified and equalized in a single step. This method can be used in combination with isotopic labelling for quantitative proteomic studies. A total of 344 proteins were identified in *N. meningitidis* OMVs from VA-MENGOC-BC®, analyzing equalized and non equalized samples.

Usefulness of *Neisseria meningitidis* derived proteoliposome as an adjuvant for allergen vaccines. A Labrada*, W Ramírez, A Más, R Samalea, Y Alonso, D Martínez, V Bourg, M Lastre¹, O Pérez¹, BIOCEN, Bejucal, ¹Finlay Institute, Havana, Cuba. *labrada@biocen.cu

Background. Allergen-specific immunotherapy has advanced rapidly in recent years using better-defined allergen vaccines and new administration routes. One important trend is to investigate new adjuvants with immunomodulatory properties. Alum hydroxide has also been used in allergy vaccines in spite of its claimed pro-IgE features. Proteoliposome (PL) onto Aluminium hydroxide (Alum) has been proven as a potent Th1 adjuvant. **Objective.** To investigate formulations based on purified House Dust mite allergens and PL adsorbed onto Alum. **Results.** Purified allergen fraction of *Dermatophagoides siboney* (Der s 1 + Der s 2) was formulated together with PL, mixing it previously to adsorption or adsorbed later to Alum. Immunogenicity of such formulations has been tested in Balb/c mice by subcutaneous route, regarding allergen-specific IgG antibody production. Allergen challenge test by aerosol inhalation was used as a protection assessment. Adsorption onto Alum has demonstrated to be useful assuring pharmaceutical stability of the formulation for two years at 4 °C, as well as a common delivery vehicle for both immunoactive components. Optimal adsorption values were obtained reducing the concentration of phosphate ions. The formulation consistently induced IgG2a and IFN γ (Th1 polarization) as well as IgG1 antibodies with a potential anti-IgE blocking effect. Prior administration of the PL onto alum without allergen showed to enhance this allergen-specific immunogenic effect. **Conclusions.** The antiallergic protective effect was proven in a preventative setting, showing to decrease the inflammatory response in the lungs of mice exposed to allergen aerosol, as well as, a Th2-antagonistic immune response.

SOP. *In vitro* dendritic cell activation by AFPL1 and AFCo1 derived from *Neisseria meningitidis* B. E González*, HK Tay¹, MA Pineda¹, B Romeu, C Zayas, M Lastre, M Cuello, O Cabrera, J Balboa, M Harnett¹, A Meléndez¹, and O Pérez. Immunology Department, Research Vice-presidency, Finlay Institute, Havana, Cuba and ¹Division of Immunology, Infection and Inflammation, Glasgow Biomedical Research Centre, University of Glasgow, Scotland, UK. *elygonzalez@finlay.edu.cu

Introduction. With the emergence of new generation vaccines, adjuvants have become an important ingredient in vaccines development. However, the use of adjuvants has been limited mainly to aluminium compounds, although a significant number of new adjuvants are under development and few of them are already approved. AFPL1 and AFCo1, from Finlay Institute, are derived from *N. meningitidis* serogroup B and beside their use as *Neisseria* vaccines, they have exceptional characteristics as adjuvants demonstrated in previous *in vivo* studies. However the *in vitro* studies are also important; with high cost-effectiveness and permitting evaluate the ability of an adjuvant to activate Dendritic Cells (DCs), as professional antigen presenting cells. **Objective.** To evaluate *in vitro*, the ability of AFCo1 and AFPL1 to activate DCs. **Results.** AFPL1 and AFCo1 induced the maturation and activation of immature DCs, evidenced by the expression of co-stimulatory

molecules (CD80 and CD86) and the production of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-12 and TNF α) respectively. Correspondingly these mature DCs were capable of activate naïve T cells, inducing a Th1 pattern response, support by the production of IL-12 and INF γ . In all experiments the immune response induced by Finlay Adjuvants were significantly higher than Alum and LPS. **Conclusion.** AFPL1 and AFCo1 are potent adjuvants, able to activate DCs and naïve T cells, polarizing the immune response toward a Th1 pattern. These results ratify previous *in vivo* studies and demonstrate that Finlay adjuvant are efficient to be considered for the development of new generation meningococcal vaccines where recombinant proteins or subunits are used.

SOP. AFCo1 provides nasal adjuvant activity against capsular polysaccharide of *Neisseria meningitidis* serogroup C. B Romeu*, E González, M Cuello, O Cabrera, C Zayas, Y Valdés, J Balboa, M Lastre and O Pérez. Finlay Institute, Havana, Cuba. *bromeu@finlay.edu.cu

Background. Increasing emphasis is being placed on the mucosal administration of vaccines in order to stimulate systemic as well as mucosal responses. Bacterial polysaccharide conjugate vaccines are the gold standard to conferred protection for thyme-independent antigens. Despite efficacy of conjugate vaccines local mucosal immune responses are likely to play an important role in host defense. A different approach could be the incorporation of potent adjuvants into plain polysaccharides vaccines, which change the thyme-independence pattern. Findings from our group suggest that proteoliposome-derived cochleate (AFCo1) act as a potent mucosal adjuvant. **Objective.** To determinate the benefit of using AFCo1 to improve the mucosal and systemic immune responses to capsular polysaccharide of *N. meningitidis* serogroup C (PSC), a model of a thyme-independence (TI) type 2 antigen as an alternative to chemical conjugation. **Results.** Therefore, intranasal (i.n) immunisation with three doses one week apart with AFCo1 plus PSC in mice was conducted. High specific anti PSC IgA responses and anti PSC IgG response were obtained. The subclass pattern induced against PSC was similar to that induced by the i.n immunisation of conjugate meningococcal vaccine. The long-time mucosal and systemic memory responses, after the booster immunization with PSC 70 days later of the last immunisation were evaluated. **Conclusions.** In summary, AFCo1 was effective and capable to induce memory responses as nasal adjuvant, which demonstrates the advantage of the mucosal route for elicitation of specific responses against a TI antigen.

Symposium V. Gonococcal Vaccines

Chairs. Peter Rice and Magnus Unemo

A global perspective of emergence of untreatable gonorrhea-responses in regards to public health and research are crucial! M Unemo*. WHO Collaborator; Swedish Reference Lab. for Pathogenic Neisseria, Department of Lab. Medicine, Microbiology, Örebro Univ. Hospital, Sweden. *magnus.unemo@orebroll.se

The antimicrobial resistance (AMR) in *Neisseria gonorrhoeae* (gonococci) continues to escalate and compromise effective treatments and disease control efforts globally. Recent years, increasing AMR to all of the currently ideal, and last remaining, treatment options extended-spectrum cephalosporins (ESCs) and treatment failures using oral ESCs, have emphasized that gonorrhea may become untreatable in certain circumstances. A recent expert review (Tapsall *et al.* Expert Rev Anti Infect Ther. 2009) described WHO approaches to AMR containment and to meet the public health challenges of potentially untreatable gonorrhea. Keys to meeting these challenges remain the reduction in gonorrhea burden by enhanced disease control combined with implementation of wider strategies for AMR control, better understanding of mechanisms and dynamics of emergence and spread of AMR in different populations, monitoring of gonococcal AMR and gonorrhea treatment failures, as well as public health response plan(s) (including sustainable clinical, microbiological, epidemiological, and programmatic components). However, this will not be sufficient to, in a longer term, prevent the emergence, establishment and spread of potentially untreatable gonorrhea. Instead, these responses will mainly be exceedingly valuable in detaining the global spread of untreatable gonorrhea. Accordingly, it is essential to timely develop new effective drugs for treatment of gonorrhea, and ideally, to develop an effective vaccine, which at least is effective enough to prevent the severe complications and sequelae of gonorrhea.

Changing pattern of the antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Cuba. Rafael Llanes*, Oderay Gutiérrez, Onelkis Feliciano, Victoria Vázquez, Alina Llop, Katia Ale, María Isela Lantero¹. IPK and MINSAP, Havana, Cuba. *llanesrafael2002@yahoo.com

Introduction. Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* makes gonorrhea difficult to control. **Aims.** To conduct a comparison of antimicrobial susceptibility patterns of *N. gonorrhoeae* strains isolated in Cuba in 2 different time periods;

1995-1999 and 2009-2010, by the agar dilution and E-test strip diffusion methods. **Results.** Of 121 strains investigated from 1995-1999, 61.2% were resistant to penicillin and two strains (1.7%) were resistant or exhibited a reduced susceptibility to ciprofloxacin. Of 32 strains studied in the 2nd time period; 75% were resistant and 6.2% had reduced susceptibility to ciprofloxacin, which currently is the drug most frequently used in Cuba for the treatment of gonococcal infection. The percent resistance of *N. gonorrhoeae* to penicillin decreased to 12.5% in the 2nd time period. Tetracycline resistance was equivalent in both study periods (54.5% and 56.3%, respectively); 100% of all strains investigated were susceptible to ceftriaxone and spectinomycin. **Conclusions.** In Cuba, a significant shift in antimicrobial resistant patterns of *N. gonorrhoeae* was observed, between the two time periods, with a marked increased prevalence of fluoroquinolone-resistant strains and a reduction of resistance to penicillin. Despite the moderate number of strains tested, these findings have implications for antimicrobial management of gonorrhea in Cuba.

Opa-dependent effects on Gonococcal Infection and Immunity: Molecules to Mammals. M Amin¹, HS Sarantis¹, A Sintsova¹, EA Islam¹, H Wong¹, SE McCaw¹, JE Shively², CHF Chan³, CP Stanners³, and SD Gray-Owen*. ¹University of Toronto, Ontario, Canada; ²City of Hope Research Institute, Duarte, California, USA; and ³McGill University Cancer Centre, Montreal, Quebec, Canada. *scott.gray.owen@utoronto.ca

Background. *Neisseria gonorrhoeae* Opa proteins bind human CEACAM1, CEACAM3, CEACAM5 and CEACAM6. These receptors are differentially expressed on a wide variety of cell types in humans, and individual Opa variants may be specific for one or more CEACAM. **Aim.** To understand the specific contribution of Opa binding to each human CEACAM during infection of the female genital tract. **Results.** We have employed a panel of transgenic mice expressing various combinations of human CEACAMs, each with a spatiotemporal expression pattern reflecting that in humans. CEACAM1 and CEACAM5 transgenic mice are both effectively colonized by *N. gonorrhoeae*, with bacterial loads and durations of infections significantly greater than wild type mice. Mouse neutrophil expression of human CEACAM3 promotes effective capture and killing of Opa-expressing gonococci, and drives enhanced inflammation to the bacteria *in vivo*. Analysis of fresh isolates from primary human specimens indicates that there is a selection for Opa variants that bind CEACAM1 and CEACAM5 but not CEACAM3 during human infection. **Conclusions.** Combined, these results, confirm a central role for Opa-CEACAM interactions *in vivo*, and suggest the differential interaction with individual CEACAMs may differentiate between gonococcal infection and disease.

Induction of Opa and Pili during *in vitro* *Neisseria gonorrhoeae* infection of human fallopian tube epithelial cells. Caridad Zayas*, Patricia Díaz¹, Iván Tobar¹, Jaime Tobar¹, Elizabeth González, Miriam Lastre, Maribel Cuello, Osmir Cabrera, Belkis Romeu, Julio Balboa, Luis Velazquez¹ and Oliver Pérez. Finlay Institute, Havana, Cuba, ²Univ. Santiago de Chile, Chile. *czayas@finlay.edu.cu

Background. *Neisseria gonorrhoeae* is a unique intracellular pathogen that infects human reproductive tract epithelial cells and causes the disease gonorrhea. Pili and opacity-associated proteins (Opa) are surface-exposed structures of *N. gonorrhoeae*. Each of these proteins has been shown extensively to play a role in gonococcal adherence and invasion of host epithelial cells but phenotypic variation of these proteins in different variants of *N. gonorrhoeae* has not been well characterized. Although systemic IgG antibodies are induced specifically by infection with different serogroups of *N. meningitidis*, comparisons of mucosal responses of *N. meningitidis* serogroups with *N. gonorrhoeae* are less well characterized. **Objectives.** To verify the presence of the Opa and Pili and their phenotypes in variants of *N. gonorrhoeae* isolated during *in vitro* infection of fallopian tube epithelial cells (FTEC), and to examine mucosal antibody cross-reactivity between *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. **Results.** Opa and Pili proteins were expressed and maintained until 12 h. in FTEC culture. Induction of gelatinase enzyme by infected FTEC was determined by zymography. Human mucosal IgA in addition to IgG antibodies induced by *N. meningitidis* infection recognized *N. gonorrhoeae* antigens. **Conclusions.** The expression of Opa and Pili were induced. In FTEC and mucosal antibody cross-reactivity was demonstrated between *N. meningitidis* and *N. gonorrhoeae*.

Nitric oxide promotes *Neisseria gonorrhoeae* infection of primary cervical epithelial cells. JL Edwards*. Center for Microbial Pathogenesis, The Research Institute at Nationwide Children's Hospital and the Department of Pediatrics, The Ohio State University College of Medicine, Columbus, OH USA. *Jennifer.Edwards@nationwidechildrens.org

Neisseria gonorrhoeae is the causative agent of the disease, gonorrhea. It is known that the susceptibility of women to develop ascending gonococcal infection varies with the menses cycle. However, how steroid hormones function to modulate

progressive gonococcal disease is poorly understood. Our data suggest that engagement of complement receptor 3 (CR3) on primary cervical epithelial (pex) cells followed by Akt kinase activation may play a role in promoting *N. gonorrhoeae* infection through progesterone (Pg)-enhanced, NOS activity with subsequent NO production. NO scavengers as well as the inhibition of cervical NOS2 impaired the ability of wildtype gonococci to invade and to survive within pex cells; whereas, NOS3 inhibition resulted in decreased gonococci biomass. Similar infection studies performed under microaerobic conditions demonstrated that the impaired ability of gonococci to survive during pex cell challenge could not be rescued by AniA-dependent nitrite reduction. In this regard, the ability of gonococci to use NO as an electron donor for respiration as well as gonococcal NO detoxification mechanisms may play distinct roles in promoting gonococcus survival during the course of cervical disease. Collectively, these studies provide new insights into the role of steroid hormones and NO in gonococcal cervicitis.

The affect of steroid hormones and oxygen availability on complement-mediated *Neisseria gonorrhoeae* infection of the primary cervical cells.

JL Edwards*. Center for Microbial Pathogenesis, Research Institute at Nationwide Children's Hospital and the Department of Pediatrics, Ohio State University College of Medicine; Columbus, OH, USA.
*Jennifer.Edwards@nationwidechildrens.org

Asymptomatic cervicitis is the primary factor contributing to the propensity of women to develop chronic gonococcal disease sequelae as well as to the continued prevalence of gonorrhea in the general population. Clinical data indicate that there is a hormonal component to gonococcal infection in women; however, data are limited regarding the underlying mechanism(s) of this phenonemum. Investigations of the gonococcus-epithelial cell interaction generally have been performed under normal, aerobic, laboratory conditions; whereas, the uterine cervix exist as a microaerobic environment. Previously we have shown that the pathogenic mechanisms mediating infection of the cervix cannot be extrapolated to infection of males or to the upper female genital tract, nor can data obtained using primary cervical (pex) cells be mirrored *in vitro* or by using immortal/malignant cell lines. A detailed understanding of the gonococcus-cervix interaction under conditions mimicking those encountered *in vivo* is imperative to the future development of efficacious strategies to combat gonococcal disease. We previously identified complement receptor 3 (CR3), alternative pathway complement proteins, cervical cell signaling effectors, gonococcal adhesins, and a secreted gonococcal phospholipase as key players potentiating cervical infection. We have now expanded our previous works to examine the effect of physiological levels of steroid hormones and oxygen tensions on gonococcal pex cell infection. The **aim** of this presentation is to integrate and to summarize our data obtained to date using pex cells, as they potentially relate to the future development of new strategies towards improving women's health.

KNA 8. Can mouse models be selectively humanized to test vaccines against *Neisseria gonorrhoeae*, a human specific pathogen?

PA Rice*, J Shaughnessy, S Gulati, X Su¹, B Zheng, B Monks, AE Jerse¹, Q Liu², G Reed and S Ram. Department of Medicine, University of Massachusetts Medical School Worcester, MA, USA; ¹Institute of Dermatology, Chinese Academy of Medical Sciences, Nanjing, China; ²Department of Microbiology and Immunology, Uniformed Services University of Health Sciences, Bethesda, USA. *peter.rice@umassmed.edu

Background and Aim. Gonorrhea is restricted to humans. Species-specificity embodies binding to gonococci of human (but not mouse) C4b-binding protein (C4BP), a human classical complement (C) pathway regulator that impedes C-mediated killing of *N. gonorrhoeae*. C4BP's effect can be overcome by appropriately directed bactericidal antibody. **Results.** Estrogen-treated female BALB/c mice, transgenic for human C4BP (Tg) (n=10) and wild-type (Wt, n=10) mice, were inoculated intravaginally with 3×10^5 CFU of *N. gonorrhoeae* strain FA1090 that binds human C4BP specifically. On days 7 and 14, 4 and 3 Tg mice, respectively, remained infected; Wt mice were no longer infected. (Kaplan-Meier analysis; $p=0.048$) and (2): Estrogen-treated female Wt Balb/c mice were passively immunized (intraperitoneal [ip] route) with a broadly cross-reactive LOS-specific monoclonal antibody (mAb 2C7). Vaginal washings contained mAb 2C7. Control mice received isotype matched irrelevant mAb. Groups of immunized (n=20) and control (n=16) mice were inoculated with 5.7×10^5 CFUs of strain FA1090 (2C7 epitope positive) or 3.1×10^5 CFUs of strain FA1090, genetically deleted of the 2C7 epitope (2C7 epitope negative). Time to clearance of strain FA1090 (2C7 positive) was significantly ($p=0.03$) longer in mAb 2C7 administered mice compared with control mice. In contrast, time to clearance of strain FA1090 (2C7 negative) was the same in immunized vs. control mice ($p=0.86$). **Conclusion.** Complement evasion is important in gonococcal pathogenesis; using C Tg mice may lead to more relevant experimental models of human infection. Systemically (ip) administered antibodies reach the lower genital tract and 2C7 antibody protects mice against experimental challenge.

Symposium VI. Meningococcal Vaccines for Africa

Chairs. Einar Rosenqvist and Luis García

KNA 9. Global Epidemiology of Meningococcal disease. Challenges for Vaccine Prevention. LH Harrison*. Infectious Diseases Epidemiology Research Unit, University of Pittsburgh School of Medicine and Graduate School of Public Health, Pittsburgh, Pennsylvania, USA. *lharriso@edc.pitt.edu

Invasive meningococcal disease remains a major cause of life-threatening infections worldwide. The past decade has seen remarkable advances in meningococcal vaccine development, including conjugate vaccines that are safe and immunogenic in infants, quadrivalent conjugate vaccines, and protein-based vaccines that are effective for control of serogroup B epidemics. However, the epidemiology of meningococcal disease is highly dynamic which presents unique challenges for global vaccine prevention. The meningitis belt of sub-Saharan Africa continues to suffer from devastating epidemics, which traditionally have been caused serogroup A *N. meningitidis*. The current introduction of a serogroup A conjugate vaccine into the meningitis belt represents a major public health achievement. However, over the past decade we have seen the emergence of serogroup W-135 and serogroup X disease in Africa, the latter being particularly problematic because of the lack of any serogroup X vaccine. In many parts of the world, serogroup B accounts for a substantial proportion of disease, yet no vaccine that broadly covers endemic serogroup B strains is currently licensed. In addition, the plasticity of the meningococcal genome, which can lead to capsular switching and other major antigenic changes, also presents potential problems for vaccine prevention. Finally, vaccine and programmatic costs are major limiting barriers to global implementation of meningococcal vaccination, particularly in countries with relatively low rates of disease. Taken together, these observations suggest that, although there have been major advances in the development of new vaccines for prevention of meningococcal disease, substantial additional progress will be required to ultimately control this devastating disease.

Prevention of meningococcal disease in Africa with an outer membrane vesicle vaccine. E Rosenqvist*, G Norheim, M Arneim, L M. Næss, G Tunheim, A Aase, J Holst, DA Cugant, A. Mandiarote¹ D. González¹, I Aaberge, F. Sotolongo¹, L. García¹. NIPH, Oslo, Norway and ¹Finlay Institute, Havana, Cuba. *einar.rosenqvist@fhi.no

Background and aims. Serogroups A and W₁₃₅ meningococci are the main causes of meningococcal disease epidemics in sub-Saharan Africa. The outbreaks are clonal and express the same surface proteins PorA and PorB over time. In this situation an outer membrane vesicle (OMV) vaccines may be effective. NIPH and Finlay Institute intend to bring forward an A+W OMV vaccine candidate to clinical phase trial in Cuba in 2011. **Results.** The vaccine is produced from representative epidemic serogroup A and W₁₃₅ strains from Africa. Assays to assess identity, purity and potency of the vaccine were tailored to the A+W OMV vaccine. Several pilot batches of OMVs from each serogroup were tested in these assays. Preliminary toxicological evaluation was performed in rabbits and rats. The OMV vaccine was compared with commercially available conjugate and plain polysaccharide vaccines for immunogenicity in mice. IgG antibody responses was measured by ELISA, and functional activities were detected by bactericidal (SBA) and opsono-phagocytic (OPA) assays. A process to produce the OMV vaccine at 100 L fermentor scale has been successfully established at Finlay Institute. Quality assurance testing indicated that the vaccine passed the standard acceptance criteria for pyrogenicity and endotoxin content. The functional antibody titres (SBA and OPA) against the A and W₁₃₅ strains were significantly higher in mice immunised with the OMV vaccine than with those immunised with the conjugate or plain polysaccharides vaccines. **Conclusions.** This vaccine is suitable for testing in humans, and that it has the potential to become an effective vaccine for prevention of meningococcal disease in Africa.

Introduction of a new affordable Group A meningococcal conjugate vaccine in the African meningitis belt. F Marc LaForce*, PATH for the Meningitis Vaccine Project and Partners, Washington, DC, USA. *mlaforce@path.org. Delivered by Ray Borrow on behalf of Marc LaForce

Epidemic meningitis due to serogroup A *Neisseria meningitidis* continues to be an important public health problem in Sub-Saharan Africa. Over the last decade the Meningitis Vaccine Project, a partnership between PATH and WHO, has developed, tested and licensed a new and affordable (\$US < 0.50 per dose) serogroup A meningococcal conjugate vaccine manufactured by the Serum Institute of India. The vaccine was prequalified by WHO in June 2010 and extensive pharmacovigilance studies in Burkina Faso, Mali, and Niger did not reveal any unexpected safety problems. Country-wide vaccination of 1-29 year olds (target population 10.5 million) began on December 6th 2010 in Burkina Faso. Smaller campaigns in specified districts were also done in Mali (3 million doses) and Niger (3 million doses). This is the first vaccine to be designed specifically for Africa that has received WHO prequalification. The vaccine is affordably priced and

is available in quantity. Introduction at public health scale is expected to result in herd immunity and prevent over one million cases and 100,000 deaths over 10 years. Identifying the necessary financial resources to introduce the vaccine across the entire meningitis belt remains a challenge.

Immunogenicity of meningococcal serogroup X polysaccharide and outer membrane vesicles. G Norheim*, O Xie, H Chan¹, O Mehta, JC Hoe, D Ferguson², AJ Pollard. Department of Paediatrics; ¹Nuffield Department of Clinical Laboratory Sciences, Univ. of Oxford, Oxford, UK; ²National Institute for Biological Standards and Control, Potters Bar, UK. *Gunnstein.Norheim@fhi.no

Background and Aim. Serogroup X *N. meningitidis* has caused significant outbreaks in Burkina Faso and Niger in the last five years, but there is no vaccine against this organism. We studied the immunogenicity of polysaccharide and outer membrane vesicles (OMVs) from serogroup X (MenX) isolates from Burkina Faso. **Results.** MenX polysaccharide was purified by established methods and characterised for structure and size. Detergent extracted OMVs (dOMVs) were prepared from wild-type serogroups X and B isolates, whereas native OMVs (nOMVs) were prepared from a MenX isolate modified to express an LPS with pentavalent acyl chain of lipid A. NIH mice were immunised s.c. with 2 doses of polysaccharide or a mixture of polysaccharide and OMVs, using aluminium hydroxide (Al(OH)₃) as adjuvant in all groups. MenX nOMVs alone and polysaccharide mixed with nOMVs both elicited a significant MenX polysaccharide-specific IgG response, indicating that the nOMVs also contained polysaccharide. The polysaccharide did not induce detectable levels of IgG either when administered with Al(OH)₃ or with dOMVs. The nOMVs induced high levels of nOMV specific IgG, in contrast to the serogroup dOMVs which were poorly immunogenic. Data on bactericidal activity of the sera will be presented. **Conclusion.** A polysaccharide-nOMV based vaccine was immunogenic in mice and has the potential to prevent MenX disease.

Finlay and Bio-Manguinhos project to supply plain AC and ACW meningococcal vaccines according to emergency demand of WHO. R Barberá. rbarbera@finlay.edu.cu (Pending Abstract)

Tendency in the polysaccharide production. D González*. Finlay Institute. Havana, Cuba. *domingo_gonzalez@finlay.edu.cu

Background. The polysaccharide capsule is one of the outermost structures of pathogenic *N. meningitidis*; it has been a primary focus of attempts to develop vaccines as plain and recently as conjugate form. At present, the capsular polysaccharide (CsP) production from *N. meningitidis* has been improved as a result of process stage remove and/or changes it, from culture production or upstream to the polysaccharide purification or downstream; having as **aim**, a productivity and yield increase. **Result.** New culture production, animal component free culture medium, has been development, supporting high-cell density and giving an "intensive" fermentation process with high CsP expression. In the capture and PsC purification, high capacity and resolution stage are carryout, like cross flow filtration and chromatographic systems; turn the "preparative" purification to an "industrial", increasing productivity without sacrificed product quality. **Conclusion.** The current developments on process obtaining of capsular polysaccharide purified, from *N. meningitidis*, could have a great impact in further facilities design and a dramatic cost reduction by productivity and yield increase.

Immunogenicity of a single priming dose of meningococcal serogroup C conjugate vaccine in infancy. H Findlow*, R Borrow, P Kaye¹, N Andrews¹, E Miller¹. ¹HPA, Manchester Royal Infirmary, UK and ¹HPA, London, UK. *helen.findlow@hpa.org.uk

Background. In 1999, in the UK, MCC vaccines, from 3 different manufacturer's, were introduced at 2, 3, 4 months of age with a single dose for children 1 to 18 years. In 2006 the schedule was refined to 3, 4, 12 months of age. Recent data have demonstrated that 2 of the 3 MCC vaccines showed potential for use as a single priming dose in infancy. **Results.** A randomised trial was undertaken with one MCC-TT and one MCC-CRM₁₉₇ vaccine in infants immunised at 3 months of age with a booster of combined MCC/Haemophilus influenzae type b (MCC/Hib) at 12 months. The serum bactericidal antibody (SBA) geometric mean titre (GMT) one month following a single dose of MCC-TT or MCC-CRM₁₉₇ was 214.7 (95% CI 156,8-294,0) and 100,6 (95% CI 70,4 to 143,7) with 100% and 95,7% of infants with SBA titres = 8, respectively. Pre-booster, antibody levels had declined and 1 month post Menitorix booster, SBA GMTs rose to 2251,0 (95% 1546,2-3276,9) and 399,1 (95% CI 263,8-603,9) for children primed with MCC-TT and MCC-CRM₁₉₇, respectively. One month following vaccination, similar proportions of subjects had SBA titres = 8. Prior to boosting the SBA GMT of the two groups declined to similar levels, however, following boosting with MCC/Hib, the magnitude of the SBA GMT was higher for those subjects primed with MCC-TT. **Conclusion.** Priming with one dose in this study versus two doses in a previous trial, did not impact on the magnitude of the SBA GMT one month post MCC/Hib booster.

Immunogenicity and memory elicited in mice by a three-valent capsular polysaccharide-TT conjugated vaccine against A, C, W₁₃₅ serogroups of *Neisseria meningitidis*. L Rodríguez*, D García, A Garcés, M González¹, U Ramírez, G Ney, J Pedroso, Y Luque, Y Martín, M Travieso, A Amador, Y Valdés¹, V Fernández¹, V Vérez. CQB and ¹Finlay Institute, Havana, Cuba. *laura.noda@cqb.cu

Introduction. Disease due to *N. meningitidis* infection remains a health problem. Serogroups A, C, and W₁₃₅ are into the most pathogenic and the pathogenesis is determined by their capsular polysaccharide (CPS). However, native CPS vaccines are poorly immunogenic in neonates and infants. The more effective strategy to improve the immunogenicity of these CPS is its conjugation to a carrier protein. **Objective.** To investigate the immunogenicity of trivalent conjugated vaccine against serogroups A, C, and W135 conjugated to tetanus toxoid (TT) in mice. **Results.** The general methodology for the conjugation was based reductive amination method. Alumine phosphate was used as adjuvant. The immunization schedule consisted on 3 doses (4 ì g of each CPS-TT conjugated) every 14 days in Balb/c mice. The immune response was done by ELISA and bactericidal assay. The immunization with the trivalent formulation elicited high titers of anti-CPS IgM after first dose and IgG after second and third doses. The avidity of anti-CPS IgG was enhanced after third dose compare with second one. The dominant IgG subclass for three conjugated was orderly IgG1, IgG2a, and IgG3. The serum antibodies have bactericidal effects against alive bacteria. Specific IgG and IgA levels were detected in saliva and pulmonary fluid. High levels of IgG were the response to CPS booster after 10 months of first dose, as evidence of memory. **Conclusions.** Immunogenicity, memory, affinity maturation, antibodies functionality and mucosal immunity were demonstrated. Therefore, they are part of the preclinical support for the future develops of Cuban conjugated vaccine against *N. meningitidis*.

Poster Session

1. Meningococcal carriage in Cuban different age groups. I Martínez*, N Nuñez, MJ Valdés¹, N Álvarez², O López³, L Izquierdo, G Sierra. Finlay Institute; ¹ELAM, La Habana; ²CMHE, Jagüey Grande, Matanzas; ³Hosp. Comandante Pinares, San Cristóbal, Pinar del Río, Cuba. *isamartinez@finlay.edu.cu

Introduction: Asymptomatic nasopharyngeal carriage of *N. meningitidis* is universal. About 5-35% of the populations carry meningococci in the upper respiratory tract at any point in time which much higher rates amongst teenagers and young adults. The cause of progression from carriage to invasive meningococcal disease is unclear but probably depends on characteristics of both the host and the infecting microorganism. **Objective.** To estimate the age-specific prevalence of meningococcal carriage in five different age groups from 1 to 60 years old. **Results.** The prevalence of *N. meningitidis* was relationship to age of this different risk groups. The nasopharyngeal swabs investigated (942) were plated immediately after being taken in a selective medium for *N. meningitidis*. The identification was carried out using conventional methods and the API NH system (bioMérieux). The serogroups were determined by agglutination in slides with specific antisera and the sero-subtypes were classified by whole cell ELISA with monoclonal antibodies. The *N. meningitidis* non-epidemiogenic strains were prevalent. Carriage prevalence increased through childhood from 4-7% in infants to a peak of 17-26% in people aged from 12-22 years old and subsequently decreased in adulthood to 7-8%. **Conclusions.** Estimates of carriage prevalence by age are important for studying the dynamics of carriage and disease and for understanding the potential effect of control programmes, such as vaccination, on the transmission of meningococci.

2. Meningococcal carriage, risk factors associated and basal immune response in a teenager group. MJ Valdés*, I Martínez¹, G Sierra¹, MA Camaraza¹, I Cuevas¹, M Mirabal¹. ELAM and ¹Finlay Institute, Havana, Cuba. *mjuliahv@elacm.sld.cu

Introduction. *N. meningitidis* is an important cause of meningitis and septicemia. In most individuals, infection leads to a period of asymptomatic carriage, during which meningococci colonize the pharynx and after which the organism is naturally cleared. Investigations into meningococcal carriage are crucial to the understanding of transmission dynamics and epidemiology. **Objective.** To determine the prevalence of *N. meningitidis*, the epidemiological markers as well as risk factors associated to carrier state and to basal immune response to VA-MENGOC-BC® in teenagers. **Results.** A descriptive transversal study of *N. meningitidis* carriers involving 189 students of 12-19 years old of a Polytechnic School in Ciego de Avila province was carried out. Blood sample and pharyngeal swab tests were carried out to the students, in addition a survey was performed to find out aspects of research. Identification of *N. meningitidis* was carried out by API NH system (bioMérieux). Sero-subtypes and immunotypes were classified by whole cell ELISA with monoclonal antibodies, and basal immune response was detected by Bactericide Serum Assay. Prevalence of *N. meningitidis* was 17%. Non groupable strains were predominant (84.7%), followed by serogroups B (12.5%), and Z (3.1%), and serogroup C was absent. The phenotype NA:NT:P1.NST:L3.7.9 (12.5%) prevailed. Memory immune response to meningococcal vaccine VA-MENGOC-BC® was observed, 12 years after its application, with anti C and B bactericide titers of 25 and 42% respectively.

Conclusions. The meningococcal carriage was within the limits described for this age group and low percentage of the Cuban' epidemic strain, as well as the absence of serogroup C, could be related with the systematic immunization carried out in Cuba with VA-MENGOC-BC®. There were no significant differences in the *N. meningitidis* carriage according to risk factors investigated and the students had antibody response against B:4:P1.19,15:L3,7,9 and C11 ATCC *N. meningitidis* strains.

3. The safety of personnel that manipulates *Neisseria meningitidis* at Finlay Institute. G Pardo*. Finlay Institute, Havana, Cuba. *gpardo@finlay.edu.cu

Background. The possibility of occupational risk is demonstrated in those subjects, who due to their profession are involved with pathogenic microorganisms like *N. meningitidis*. This pathogenic microorganism is the main agent of the meningococcal disease. The possibility of transmission increases in the case of emergent or re-emergent diseases, and becomes critical when the personnel work with large volumes like in production of vaccines. It means "risk" to the probability of occurrence of damage in terms of injury, damage to property, the environment or both. When speaking of risks we must bear in mind always the exposure, the frequency with which materializes the event in question and the consequences that may arise. This microorganism belongs to the risk group II according to the national legislation in force in our country. **Objective.** To determine the risks of staff that manipulates *N. meningitidis*. **Results.** The use personal protection devices and equipment in order to feel personally safe is one aspect about as well as vaccination. The Finlay Institute facilities design, the training and practices complement the safety. In the Finlay Institute there are many workers exposed in various areas: Production Plant III, Pharmaceutical Development, Technical Vice President and laboratories of researches, bacteriology and strains belong to Vice President of Researches and Quality. **Conclusion.** It's obtained the more important elements about biosecurity in biological risk areas in which it manipulate *N. meningitidis* presents in the Regulation of biological safety.

4. Accessibility to pili-linked phosphorylcholine of *N. meningitidis* is influence by phase-variation of the pili-linked glycan, and both factors are required for efficient cell association via the PAF receptor on human airway epithelial cells. MJ Warren², FE Jen¹, JL Edwards³, BL Schulz², ChE Jones², JT Blanchfield², PM Power⁴, WE Swords⁵, JN Weiser⁶, MA Apicella⁷ and MP Jennings^{1*}. ¹Institute for Glycomics, Griffith Univ., Australia; ²School of Chemistry Molecular Biosciences, Univ. of Queensland, Australia; ³Center for Microbial Pathogenesis, Research Institute at Nationwide Children's Hospital and Department of Pediatrics, Ohio State Univ., Columbus, USA; ⁴Molecular Infectious Diseases Group, Department of Paediatrics, Weatherall Institute for Molecular Medicine, Univ of Oxford, UK; ⁵Department of Microbiology, Wake Forest Univ. Health Sciences, Winston-Salem, North Carolina, USA; ⁶Department of Microbiology, Univ. of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, USA; ⁷Department of Microbiology, Univ. of Iowa, USA. *m.jennings@griffith.edu.au

Background and Aim. Pili of pathogenic *Neisseria* are major virulence factors associated with adhesion, twitching motility, autoaggregation and DNA transformation. Pili of *N. meningitidis* are post-translationally modified by several different modifications including the addition of phosphorylcholine (ChoP) and a glycan. Previous work has shown that expression of both the pilin-linked ChoP and glycan are phase-variable (subject to high frequency reversible on/off switching of expression). The aim of this study was to determine the location of the ChoP modification and its function in *N. meningitidis* host pathogen interactions. **Results and Conclusion.** We report that the location of ChoP is on the C-terminus of *N. meningitidis* pilin. We demonstrate that accessibility to ChoP is affected by changes to the pilin amino acid sequence and also by changes to the structure of the pilin-linked glycan due to phase variation. We confirm a key role for the pilin-linked glycan and ChoP in adherence to 16HBE14 human bronchial epithelial cells, and identify the platelet activating factor receptor as the key receptor for pilin-mediated cell association in these cells.

5. Effects of adjuvant, mouse strain and dose regimen on immune responses in mice immunized with a meningococcal A+W₁₃₅ outer membrane vesicle vaccine. M Arnemo*, K Bolstad, LM Næss, A Aase, G Tunheim, G Norheim, A Mandiarote¹, D González¹, L García¹, E Rosenqvist. NIPH, Norway; ¹Finlay Institute, Havana, Cuba. *marianne.arnemo@fhi.no

Background and aim. An outer membrane vesicle (OMV) vaccine from representative group A and W₁₃₅ strains from Africa has been produced at Finlay Institute. The immunogenicity of this vaccine was tested with and without adjuvant in two different mouse strains at NIPH to reveal the importance of a third dose, adjuvant and choice of mouse strain. **Results.** Groups of Balb/c and C57BL/6 mice were immunized with the A+W₁₃₅ OMV vaccine, with and without Al(OH)₃ adjuvant (1:40). The mice received 3 doses with three weeks interval of 4+4 µg (A+W₁₃₅) OMV protein/dose s.c. Blood samples were collected on day 0, 21, 42, and 56. Immune responses were tested by ELISA and by immunoblotting

against A and W₁₃₅ OMVs. For the groups receiving the OMV vaccine with adjuvant, there were detected high levels of IgG antibodies after immunization. There was a significant increase in specific IgG antibody response from first to second dose, but not from second to third dose. For mice that did not receive adjuvant, the specific IgG antibody response increased first after second and third dose. There was no significant difference in IgG antibody response between mouse strains. **Conclusions.** Adsorption of OMVs to Al(OH)₃ is important for the immune response in mice. Two doses of OMV with Al(OH)₃ adjuvant seem to be sufficient for high specific IgG antibody response. The choice of mouse strains in this trial did not seem to influence the results significantly.

6. Comparison of immunogenicity of a meningococcal A and W₁₃₅ outer membrane vesicle vaccine with A, C, Y, W₁₃₅-meningococcal conjugate and polysaccharide vaccines. M Arnemo*, LM Næss, L Nome, K Bolstad, A Aase, A Mandiarote¹, D González¹, G Tunheim, L García¹, G Norheim, E Rosenqvist. NIPH, Norway; ¹Finlay Institute, Havana, Cuba. *marianne.arnemo@fhi.no

Background and aim. Serogroups A and W₁₃₅ meningococci are the main causes of meningococcal disease in sub-Saharan Africa. An outer membrane vesicle (OMV) vaccine from representative group A and W₁₃₅ strains has been produced at Finlay Institute, and the immunogenicity in mice of this vaccine was compared with conjugate and polysaccharide vaccines at NIPH. Clinical trial of this OMV vaccine is planned in Cuba later this year. **Results.** NMRI mice were immunized with either preclinical batches of A+W₁₃₅ OMV vaccine, or with commercially available A+C+W₁₃₅+Y conjugate vaccine (Menveo®, Novartis) or A+C+W₁₃₅+Y polysaccharide vaccine (Mencevax®, GlaxoSmithKline). The mice received 2 doses of 1/10 of a human dose with three weeks interval. Blood samples were collected on days 0, 21 and 33. Immune responses were tested by ELISA, and by serum bactericidal (SBA) and opsonophagocytosis assays (OPA). High levels of IgG antibodies against both OMVs were detected in mice receiving the OMV vaccine. The conjugate vaccine induced IgG antibodies against A and W₁₃₅ polysaccharide, whereas no IgG antibodies were detected in mice receiving plain polysaccharide vaccine. High SBA titers were detected in mice after receiving both one and two doses of OMV vaccine. No response was detected in SBA after one dose of conjugate or polysaccharide vaccine. Significant higher SBA and OPA titers were detected in mice immunised with OMV vaccine than in those immunised with conjugate vaccine. **Conclusion:** The A+W₁₃₅ OMV vaccine induces high levels of functional antibodies in mice and may be an alternative or a supplement to conjugate and polysaccharide vaccines for Africa.

7. Immunogenicity of *Neisseria meningitidis* serogroup A and W₁₃₅ outer membrane vesicles in murine models. T Valmaseda*, A Mandiarote, H González, G Tunheim¹, G Norheim¹, R Oliva, I Ontivero, L Næss¹, JL Perez, RL Solis, DA Caugant¹, E Rosenqvist¹ and L García. Finlay Institute, Havana, Cuba; ¹NIPH, Oslo, Norway. *tvalmaseda@finlay.edu.cu

Background. Serogroup A and W₁₃₅ *N. meningitidis* are the major cause of meningitis epidemics across the meningitis belt in Africa. Affordable vaccines providing long-term protection against all serogroups and in all age groups are urgently needed for prevention of meningococcal disease in Africa. Studies of convalescent sera from meningococcal disease patients and of sera from mice immunized with outer membrane vesicles (OMV) from serogroup A and W₁₃₅ strains have demonstrated that antibodies against the non-capsular antigens are able to exert bactericidal activity against meningococci. Epidemic strains in Africa are clonals and have limited antigenic variability. Thus OMV vaccines could be an alternative or supplement to polysaccharide vaccines. **Objective.** To characterise the immune response in rat and mice immunized with OMVs prepared at pilot scale from serogroup A and W₁₃₅ serogroups. **Results.** Significant levels of IgG towards OMV of fourth bivalent vaccines were inducing in mice and rats models. The bivalent OMV sucrose vaccines induced higher levels than bivalent OMV alcohol preparations. Sucrose 003a(499)-002w preparations (group 2) induced highest mean IgG response. **Conclusions.** OMV vaccines based on serogroup A and W₁₃₅ strains induce high levels of specific IgG antibodies. A combined mena+menw OMV vaccine may be an alternative or a supplement to the polysaccharide vaccine as a candidate for routine vaccination against meningococcal disease in Africa at an acceptable cost

8. Obtention of immunogenic conjugates from *Neisseria meningitidis* Capsular Polysaccharides Serogroups A, C and W₁₃₅ to Tetanus Toxoid. M González*, UJ Ramírez¹, J Pedroso, F Cardoso, R Garrido, L Rodríguez, JN Hernández, Y Valdés, V Fernández, V Vérez. CQB; ¹Finlay Institute. *majela.gonzalez@cqb.cu

Introduction. *N. meningitidis* is a leading cause of bacterial meningitis and sepsis throughout the world. There are thirteen different serogroups of this bacterium, which have been identified on the basis of their capsular polysaccharides (PsC). Five of these serogroups (A, B, C, W₁₃₅, and Y) are the cause of the majority of meningococcal diseases. Conventional vaccines based on meningococcal PsC elicit an immune response in children and adults. However, their efficacy in infants and young children is limited, due to the thymo-independent nature of the PsC. These T-independent

antigens could become T-dependent through conjugation to a carrier protein. **Objective.** To obtain conjugated vaccines against serogroups A, C, W₁₃₅ and Y of *N. meningitidis*. **Results.** The CBQ and the Finlay Institute join to develop this conjugated vaccine. Different methodologies were used, such as periodic oxidation and reductive animation. As main results obtained are high recovering in fragmentation and activation reactions. The conjugates have a broad and controlled carbohydrate to protein ratio and low free protein. Finally the antibody titres elicited by the conjugates were high and specific against PsC. **Conclusions.** All the conjugates obtained were immunogenic. The conjugate vaccines demonstrated to be very effective but also very expensive.

9. Preliminar evaluation of a purification method for *Neisseria meningitidis* serogroup C capsular polysaccharide.

FA Primelles*, JC Martínez, K Rivero, D González, A Reyes, R Tejedor, D Arjona, M Pampim, O Guerra, M Pérez, H González, N Marrero and M Guerra. Finlay Institute, Havana, Cuba. *fprimelles@finlay.edu.cu

Introduction. Meningitis is a serious illness produced by several microorganisms including *N. meningitidis* bacteria equally in developed and underdeveloped countries. The serogroups A, B, and C are responsible for 80% of the cases worldwide. Serogroup C is frequent in Africa and Latin America. Several antimeningococcal vaccines are constituted by capsular purified polysaccharides. Usually, during polysaccharide C purification extraction with phenol to remove proteins is used. This is a very toxic reagent and it can affect polysaccharide structure. **Objective.** To carry out preliminary evaluations to advance in the improvement of technology to obtain polysaccharide C from *N. meningitidis*. **Results.** The supernatant obtained from clarification of culture was divided in same volumes to rehearse two variants in the initial stage of purification. First, polysaccharide was precipitated from the supernatant by adding hexadecyltrimethyl ammonium bromide (HB) with a stock solution. The polysaccharide/HB precipitate was isolated, calcium chloride was added to polysaccharide extraction, and was diafiltrated by tangential filtration. Second, the supernatant was only diafiltrated. The influence of HB concentration in the levels of contaminants was also evaluated in the final product. Analysis of the purified polysaccharides revealed that contaminants levels were major in the second method and this level of contaminants was similar using different concentration of HB. **Conclusions.** The use of HB with tangential filtration in the initial stage of purification, reduces levels of contaminants considerably on the final product and the concentration change of HB doesn't vary this result significantly.

10. Consistency of vaccine strains of *Neisseria meningitidis* serogroups Y and W135 to obtain capsular polysaccharides.

M Hernández*, D González, R González, D Arjona D, K Rivero, JC Martínez, H González, G Jordán, D Armenteros, R Tejedor, N Marrero, N Veranez, F Rosell, F Primelles, M Pampín, E Mirabal, O Guerra, M Guerra, M Pérez, L Pellifer. Finlay Institute, Havana, Cuba. *mhernandez@finlay.edu.cu

Introduction. The conservation to long time of vaccine strains that guarantees the purity requirements, authenticity and stability are of very importance in vaccines production, and an effective alternative to demonstrate that the used method fulfills the quality requirements consists in evaluate, to productive scale, the consistency of criopreserved strains. The objectives of this work were to evaluate the kinetic behavior of working seed bank stocks for *N. meningitidis* serogroups Y and W-135, used in to obtain polysaccharide vaccines, and to demonstrate the stability of these see bank stocks after stored during 5 years to -70 °C. **Results.** The effectiveness of culture medium and increase of cellular growth for each serogroups, as well as recovery time and viability were evaluated. Kinetic behavior to productive scale was similar to kinetic behavior at beginning to the experiment, with a characteristic kinetic growth, and similar antigenic expressions, not existing significant differences between optical densities of cultures with comparable results in productivity or cellular growth terms. **Conclusion** The consistency of processes to productive scale allowed corroborate the stability of work seed banks, staying the viability in the same logarithmic order and similar purified polysaccharide yields, fulfilling the required quality characteristics.

11. *In vitro* delivery properties of proteoliposome-derived Cochleate and implications for mucosal immunization.

R Acevedo*, C Zayas, B Romeu, E González, M Lastre, A Mullen¹, VA Ferro¹, and O Pérez. Finlay Institute, Havana, Cuba; ¹Strathclyde Univ. of Glasgow, Scotland, UK. *racevedo@finlay.edu.cu

Introduction. Adjuvant Finlay Cochleate 1 (AFCo1) is a Proteoliposome-derived cochleate obtained from *N. meningitidis* serogroup B. Transformation of proteoliposome into AFCo1 has adjuvants effect over *Neisseria* antigens when administered by intranasal (i.n) or intragastric (i.g) routes. However i.n route has demonstrated to be more immunogenic (del Campo J *et al.* Methods 49:301-308, 2009). **Objective.** To evaluate the delivery properties of AFCo1 *in vitro* in simulated gastric (SGF) or nasal fluid (SNF) and support the results found when AFCo1 was administered by any of both routes in Balb/c mice. **Results.** The SGF release the antigens faster than SNF. This result could explain the lower immunogenicity of i.g

than i.n routes obtained with AFCo1. This is overcome by increasing the i.g antigen/adjuvant concentration. **Conclusion.** The delivery of antigens from AFCo1 is more influenced *in vitro* by the SGF than SNF in correspondence with *in vivo* results.

12. Validation of serum bactericidal assay for *Neisseria meningitidis* serogroup A, C, and W₁₃₅ in human sera by tilt method. B Cedré*, Y Hernández, I Delgado, A Cruz, A Mandariote, L Kristiansen¹, L Naëss¹, E Rosenqvist¹, RL Solís, L García. Finlay Institute; ¹NIPH, Oslo, Norway. *bcedre@finlay.edu.cu

Introduction. Serum bactericidal activity has been accepted as the “gold standard” laboratory correlate of protection for meningococcal disease. Validation of this assay is necessary to verify that its performance parameters are adequate for use for a particular analytical problem. **Objective.** The aim of this paper was to validate serum bactericidal assay using tilt method. **Results** Parameters such as repeatability, precision, exactitude, specificity and robustness were evaluated for A, C and W135 serotypes and the coincidence was calculated. Sera from vaccinated human against the three serotypes with high, medium and low titer were tested and the results compared with a positive control and with each one of six repetition, in different days and carried out by different technicians using reactive and solutions prepared by each one. In the specificity, sera from volunteers vaccinated against cholera were evaluated and different variables were introduced in the robustness test. The coincidence was higher than 95% in the precision assays with a maximum deviation ± 1 dilution independently of the operator and the conditions employed. Positive control titer was always 1280 in the exactitude determination and coincided with the reported one. None serum sample of vaccinated against cholera evaluated for the specificity showed titers of antibody to *N. meningitidis*, and the alternative variables used in the robustness assay showed the same titer in comparing with the regular test. **Conclusion.** Serum bactericidal assay validated showed a precision, specificity and robustness adequate to evaluate the immune response elicit by vaccines against *N. meningitidis*.

13. Comparison of different methods to evaluate the serum bactericidal activity against *N. meningitidis* serogroup C. Y Hernández*, B Cedré, MA Camaraza, F Sotolongo, O Pérez, M Lastre, RL Solís, L García. Finlay Institute, Havana, Cuba. *yhernandez@finlay.edu.cu

Introduction. Serum bactericidal activity (SBA) has been accepted as the “gold standard” laboratory correlate of protection for meningococcal disease. Considerable data indicate that serum complement-mediated bactericidal antibody confers protection against meningococcal disease. Standardized protocols for bactericidal assays that use rabbit serum as complement source have been described. These assays have been widely used as a way to infer vaccine effectiveness and as a basis for licensure of new meningococcal vaccines. **Objective.** The aim of this paper was to compare three different methods to evaluate sera samples of human immunized against serogroup C polysaccharide, those were: Tilt method, overlay agar and colorimetric assay. Sera with different titers (negative, low and high titers) were evaluated. **Results.** In the most of the cases, titers were the same comparing the three assays with a maximum deviation ± 1 dilution. **Conclusions.** The tilt method using an automatic colony counter and the colorimetric one, visually read, allowed a faster reading and thereby the analysis of a higher number of samples. The agar overlay method requires training operators for the reading.

14. Toxicological study on cochleates obtained from *Neisseria meningitidis* serogroup B outer membrane as vaccine adjuvant candidates. JF Infante*, B Tamargo¹, V Pérez, C Fleites¹, R Oliva, A Ponce, G Sierra. Finlay Institute; ¹IFAL, Havana, Cuba. *jinfante@finlay.edu.cu

Introduction. During a collaborative study between Finlay Institute and (IFAL), Havana University, has been developed different candidate vaccine adjuvants to be administered by different routes as components of new vaccines. These candidates include some obtained from vesicles of *N. meningitidis* serogroup B outer membrane by means of a innovative technology which produced consistent immunoenhancing nanostructures. **Objectives.** To evaluate in Balb/c mice organs and tissues level the possible histopathological impact on the applications of these formulations in comparable doses and schemes with referenced vaccines. **Results.** The formulations with cochleates of *N. meningitidis* serogroup B outer membrane contents were considered potentially non-toxics at local and systemic level when administered by different routes, which agree with previous reports of other national and international research groups. **Conclusion.** The *N. meningitidis* serogroup B outer membrane cochelate formulations were potentially non-toxic at local and systemic level, administered by different routes, which agree with previous reports of our Department and other international researches groups.

15. Molecular mimicry between major proteins from *Neisseria meningitidis* proteoliposome derived cochleate and self-proteins without evidences of organic damage in intranasally vaccinated mice. A Batista*, B Téllez¹, M Tamayo, L Galano¹, D Portuondo, J Betancourt, D Larramendi, O Cabrera², JF Infante², O Serrano³, O Pérez². TOXIMED; ¹Univ. de Oriente, Santiago de Cuba; ²Finlay Institute; ³Centro Provincial de Genética Médica, Las Tunas, Cuba. *a.batista@toxi.scu.sld.cu

Introduction. The concern that imm unizations may, in theory, induce autoimmune disease has been broadly debated and one of the proposed mechanisms for this conjectural association is the molecular mimicry (Mm). **Objective:** To evaluate if Mm for T epitopes of major proteins from *N. meningitidis* proteoliposome derived cochleate (AFCo1) and self-proteins is able to trigger organic damage in intranasally vaccinated mice. **Results.** Mm between PorB, HmbR, FrpB, OpC, and OpA from *N. meningitidis*, and human/mice proteins was investigated by bioinformatics tools: protein sequences of bacterial proteins were obtained by SWISS-PROT/TrEMBL program; CD4 and CD8 T epitopes were located with SYFPEITHI program and the human and mice organ with sequential mimicry using FASTA program. C57BL/6 and DBA mice were intranasally immunized with AFCo1 (20 µg/dose) and vehicle at 0, 5, 10 and 35th days. NMRI mice were similarly immunized but five consecutively days (40 µg/dose) to evaluate sperm toxicity. All mice were daily examined and weekly weighed. At 42th day were sacrificed and macroscopically examined during necropsy. Relevant organs (including sperms of NMRI mice) processed for microscopic examination. It was found molecular mimicry in several self-protein from: liver, lymphoid tissue, brain, lungs and others but mainly testis. In any vaccinated mouse was detected organic damage. The sperm toxicity assay not revealed modification neither spermatic concentration nor morphology changes. **Conclusion:** In spite of the existence of Mm between *N. meningitidis* and self proteins there were not evidences of organic damaged in AFCo1 intranasally vaccinated mice under our experimental conditions.

16. Risks' analysis and assessment in the qualification of HVAC system of an active pharmaceutical ingredients manufacturing facility for producing vaccines against serogroups A, B, C, and W135 of *Neisseria meningitidis* at Finlay Institute. JV Bayolo*, LD Nápoles, Y Díaz, M Hernández, A Perojo. Finlay Institute, Havana, Cuba. *jbayolo@finlay.edu.cu

Introduction. Qualification of HVAC systems is an essential requirement for the accomplishment of good manufacturing practices in a vaccine manufacturing facility. **Objective.** To involve a multidisciplinary team to the qualification of HVAC systems. **Results.** Starting from a brain storm concerning specialists of work areas of the Finlay Institute like Engineering, Quality Assurance, and Validation, potential failures which could generate deviations affect or even invalidate the qualification of the HVAC system were identified. The identified risks were evaluated attending to its impact and probability of occurrence and a risk matrix was constructed according to the following risk classification. Risks were classified as: I) Controlled (low impact and low probability of occurrence), II) Requiring periodical attention (low impact and high probability of occurrence), III) Requiring follow up (high impact and low probability of occurrence) and, IV) Requiring immediately attention (high impact and high probability of occurrence). Then, a group of measures was implemented, as well as the individual responsible for its execution and checking, in order to mitigate and control those risks with the potential of affecting the accomplishment of user's requirements and hence, the required quality for the HVAC system. **Conclusion.** General risks concerning the qualification of the HVAC system of the manufacturing facility were preliminarily identified and evaluated.

17. Validation of critical systems used in the production of active pharmaceutical ingredients and *Neisseria* vaccines at Finlay Institute. L Nápoles*, Y Díaz, MI Hernández, L Fontanet, H López, JV Bayolo, N Núñez, AR Rodríguez, L Mendosa, SI Carmona, D Cardoso, Y Herrera, L Armona, MA Hernández, R Gómez, J Carcache, Y Toledo, J Pumarada, T Ortiz, AR Fornells, C de la Mora, E Pluma, O Reyes, OI Muchuli, L Pérez, S Aguilar, M Cardoso, Y Garrido, A Escarp, JD Benítez, Y Curvelo, S García, Z Pomares, Y Curvelo, A Mandiarote, R Barberá, J Sartorio, R Martínez. Finlay Institute, Havana, Cuba. *lilian_napoles@finlay.edu.cu

Introduction. Validation of critical systems is a requirement of current regulations of the pharmaceutical industry because it ensures compliance with good practices and quality of products. **Objective.** To show methodology and results in qualification of critical systems (air clean compressed, pure steam, purified water, water for injection and HVAC), used at Finlay Institute for production of active pharmaceutical ingredients and *Neisseria* vaccines. **Results.** Validation included installation qualification (IQ), operation qualification (OQ) and performance qualification (PQ) of each system. IQ and OQ included the reading the critical aspects and parameters. PQ of air compressed and pure steam included daily monitoring for one month, the ends of branches. PQ of water systems was done in 3 phases, differentiated by the frequency of monitoring, with a total length greater than 1 year. PQ of HVAC system covered the dynamic environmental monitoring (n = 5) of the amount of particles and micro organisms. **and** Systems met the installation criteria, operated properly and are capable of generating and distributing products that met, in general case, their quality specifications: ISO criteria's about dew point, microbiology and oil content in air compressed; USP criteria's about conductivity, total organic carbon,

microbiology and endotoxins content in pharmaceutical waters and pure steam; criteria recommended by EMEA, OMS and ISO about amount of particles and micro organisms in dynamic environmental monitoring to ensure the cleanliness classification areas. **Conclusions.** Critical system used at Finlay Institute for the production is considered valid for use. The results have been considered satisfactory by national and international regulatory agencies.

18. Qualification of the despyrogenization's tunnel of the aseptic processing area of the Finlay Institute. M Hernández*, JV Bayolo, F Miranda¹, A Llanes¹, O Muchulí¹, L Sánchez. Finlay Institute; ¹National Group of Validation. Havana, Cuba. *manhernandez@finlay.edu.cu

Introduction. To the production of the vaccines against different serogroups of *N. meningitidis* it is necessary to comply with all regulatory national and international requirements. That becomes necessary the qualification of the rooms where this activity is produced, and the equipment used during the productive stages: obtaining of pharmaceutical active ingredients, formulation and filling. **Objective.** To qualify the despyrogenization tunnel, which guarantees apyrogenics bulbs in the line of filling and the sterility of the meningococcal vaccines from Finlay Institute. **Results.** The existence of the technical complete documentation, as well as its installation according to the manufacturer's recommendations verified itself on the other hand the HEPA during the cycle of work evaluated the operation monitoring temperature and integrity of the filters itself, to the equal than during the performance, where microbiological challenge was utilized. Qualification of Installation: It was demonstrated that the tunnel studied was installed according to the recommendations for the manufacturer and it possesses all of the documentation of necessary engineering. Qualification of Operation: It was evidenced than the velocity of flow of air, the integrity of the filters and the moral values of differentials of pressure comply with the opinion of established acceptance at the zones of work, operating to a temperature of despyrogenization of (315 C 15). Qualification of Performance: We verify that the said tunnel operates of consistent form, and he is able to reduce endotoxin contents in over 3 logarithms the initial level, still at the zones of lower operating temperature. **Conclusion.** The tunnel of despyrogenization of the aseptic processing area of the Finlay Institute was validated.

19. Validation of the process of fermentation for the obtaining of Pharmaceutical Active Ingredients starting from *Neisseria meningitidis* in the production of vaccine. N Núñez*, JV Bayolo, L Mendoza, J Carcache, JA Martínez, V Díaz, J Pérez, I García¹, J Benítez, D Rojo, R Barberá. Finlay Institute; ¹National Group of Validation. *nnunez@finlay.edu.cu

Introduction. The validation of the processes of fermentation for the obtaining of Pharmaceutical Active Ingredients (IFA), starting from *N. meningitidis* serogroups A, B, C, and W₁₃₅ in the Plant of Production of IFA I at Finlay Institute, assures the execution of the established specifications for the production of vaccine. **Objective.** To validate the process of fermentation for the obtaining of IFA starting from *N. meningitidis* of the two fermenters that involved in the process, according to the validation protocols (PV) elaborated for each stage. **Results.** By testing the worst cases were analyzed during the sterilization, simulation of a process of fermentation and inactivation. Test was performed to determine microbiological integrity and consistency of production batches obtained from 15 processes. Deviations detected during installation requalification in both fermenters didn't limit the step to operationR and were satisfactory in both teams. The results of the tests of sterility showed values of accumulated cumulative mortality (Fo) that 24 minutes in all the cases, there was no growth in biological indicators of challenge and if used as positive control. The temperature range obtained during the simulation of the processes of fermentation and inactivation behaved within the limits established acceptance criteria. Microbiological integrity test is successful in both fermenters and the consistency of the process fulfilled the requirements established to be satisfactory performanceR. **Conclusion.** The process meets the requirements established in the regulations international. This work was considered satisfactory by international regulatory agencies (ANVISA).

20. Development of a method of HPLC-RI for determination of residual ethanol in vaccine. Its comparison with gas chromatography. M Cuevas*, Y Támbara¹, MI Delgado, AY Merchán, J Márquez. Finlay Institute; ¹CIGB, Havana, Cuba. *mcuevas@finlay.edu.cu

Introduction. The pharmaceutical active ingredients of the meningococcal Cuban vaccine VA-MENGOC-BC® (Outer membrane vesicles purified from *N. meningitidis* serogroup B and capsular polysaccharide purified from *N. meningitidis* serogroup C) are storage in ethanol. So, this vaccine has a content of residual ethanol, whose real concentration was unknown till this moment. The international regulations establish that the biopharmaceuticals products and its pharmaceutical active ingredients must have all impurities good characterized. **Objective.** To determine residual ethanol using a new method and its comparison with Gas Chromatography (GC). **Results.** The new method was the High Performance Liquid Chromatography-Refractive Index (HPLC-RI). This was standardized and compared with GC in precision and linearity. The method robustness was studied too. The evaluated method was very useful and demonstrated a good

robustness to the determination of this organic solvent in this meningococcal vaccine. There weren't significant differences between the results to the same sample by both chromatographic methods (HPLC and GC). **Conclusion.** It is possible the use of HPLC-RI method in substitution of the GC to this determination.

21. Use of monoclonal antibodies in a Western lot assay for stability studies in VA-MENGOC-BC® vaccine lots.

R Quintero*, R Diéguez, O Otero, N Costa, E Pérez, A Mandiarote, ML Chovel, ME Pérez, R Quintero, R Diéguez. Finlay Institute, Havana, Cuba. *rdieguez@finlay.edu.cu

Introduction. The scientific development reached in the manufacturing of biopharmaceuticals today and the high standard needed for their commercialization have demanded more rigorous requirements for the control of these products, including vaccines. VA-MENGOC-BC® is able to protect against the infection induced by the serogroup B of *Neisseria meningitidis*. This vaccine is based in Outer Membrane Vesicles (OMV) and a suitable identity test is needed to identify the main antigenic proteins present both in the OMV as in finished product. **Objective.** To use of monoclonal antibodies for the specific identification of the antigenic protein bands in a Western Blot technique in VA-MENGOC-BC® vaccine lots. **Results.** Samples from VA-MENGOC-BC® vaccine lots for stability studies at different months were evaluated by Western Blot using new monoclonal antibodies of antigenic proteins P1, P3, and 70 K. It was observed the presence of bands corresponding antigenic proteins P1, P3, and 70 K, responsible with others antigenic proteins of the immune response induced by the vaccine lots. These results were compared with previous studies using polyclonal antibodies. The Western Blot assay using monoclonal antibodies demonstrated to be more accurate and specific, because the use of polyclonal antibodies produced in the past the detection of undesirable, overlapped, or degradation bands. **Conclusions.** The presence of relevant antigenic protein bands corresponding to the P1, P3 and 70 K were identified in stability lots of the VA-MENGOC-BC® vaccine by a Western Blot assay using new monoclonal antibodies.

1992
1993
1994
1995
1996
1997
1998
1999
2000
2001
2002
2003
2004
2005
2006
2007
2008
2009
2010
2011
2012



.....

ANIVERSARI20

[www.finlay.sld.cu /vaccimonitor.htm](http://www.finlay.sld.cu/vaccimonitor.htm)

.....

