

## Protección frente a hepatitis B en vacunas combinadas

F. Asensi Botet, M.<sup>a</sup>C. Otero Reigada, D. Pérez Tamarit y M.<sup>a</sup>J. San Miguel Muñoz

Secció d'Infectocontagiosos. Hospital Infantil Universitari La Fe. Valencia. España.

Las vacunas combinadas están representando un gran avance técnico que permite la protección vacunal frente a un creciente número de infecciones sin necesidad de multiplicar el número de inyecciones. Las exigencias legales para la introducción de una nueva vacuna combinada incluyen ensayos clínicos que demuestren la buena respuesta inmunológica frente a cada antígeno incluido, la falta de interferencias en las respuestas de unos antígenos con otros, la eficacia protectora frente a las infecciones correspondientes y la buena tolerancia con unos efectos secundarios que no superen en número y gravedad a los de cada vacuna por separado. La vacuna frente a las infecciones por el virus de la hepatitis B, preparada por ingeniería genética y de probada eficacia en su administración aislada, ha conseguido superar todos estos requisitos cuando se ha presentado combinada con otros antígenos como son las vacunas contra el virus de la hepatitis A, la triple vacuna difteria + tétanos + *pertussis* de células enteras (DTPe), y las vacunas difteria + tétanos + *pertussis* acelular (DTPa) + antipolio inactivada + anti-*Haemophilus influenzae* tipo b. Particularmente útil resulta esta última, ya que proporciona protección frente a las seis infecciones y permite el cumplimiento del calendario vacunal oficial incorporando dos importantes avances (*pertussis* acelular y polio inactivada) sin necesidad de aumentar el número de inyecciones.

### Palabras clave:

*Hepatitis B. Virus de la hepatitis B. Vacunas combinadas. Vacuna hexavalente.*

### VACUNAS COMBINADAS

En los últimos tiempos estamos asistiendo a la aparición de un creciente número de vacunas de comprobada eficacia para la prevención de infecciones frente a las que hasta hace poco no se disponía de una eficaz protección vacunal<sup>1,2</sup>. Sin embargo, la aplicación individualizada de cada una de estas vacunas supone en la práctica toda una serie de inconvenientes relacionados con la gran proliferación de inyecciones a las que hay que someter al niño

durante sus primeros meses de vida para proporcionarle una protección vacunal completa de acuerdo con el estado actual de nuestros medios. Además de las molestias dolorosas que representa para el niño este gran número de pinchazos, entre estos inconvenientes se encuentran:

1. Aumento del número de las vistas médicas que requiere una correcta práctica vacunal (exploración prevacunacional, administración de la vacuna, seguimiento de posibles efectos adversos, etc.).
2. Mayores necesidades materiales para un correcto suministro y almacenamiento de las vacunas, incluyendo el imprescindible mantenimiento de la cadena del frío.
3. Mayores dificultades para el cumplimiento de un sobrecargado calendario vacunal.
4. Como resultado de todo lo anterior se origina un considerable aumento del "consumo sanitario" con importantes repercusiones económicas, familiares y sociales<sup>3</sup>.

Para compaginar la superación de estos inconvenientes con las ventajas ofrecidas por las nuevas vacunas se ha recurrido a la elaboración de unas vacunas combinadas que permiten administrar dos o más antígenos en una sola inyección<sup>4-6</sup>. Esto puede llevarse a cabo mediante dos procedimientos:

1. Consecución de una mezcla estable y permanente de los diversos antígenos con la garantía de que cada uno de ellos tiene una eficacia inmunogénica similar a la que presenta por separado y de que su presencia simultánea es física, química y biológicamente compatible.
2. Mezcla extemporánea de los diversos antígenos en el momento de la inyección, bien presentando unos en forma líquida y otros en forma de polvo liofilizado que se disuelve en los primeros, o bien presentando unos y otros en forma líquida en viales separados que se mezclan en la propia jeringuilla cuando vayan a administrarse o utilizando jeringuillas de doble cámara.

**Correspondencia:** Dr. F. Asensi Botet.  
Jefe de la Sección de Infectocontagiosos. Hospital Infantil Universitario La Fe.  
Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia. España.  
Correo electrónico: asensi\_fra@gva.es

Realmente el uso de vacunas combinadas no es nuevo. Hace más de cuarenta años viene utilizándose en todo el mundo la vacuna combinada contra difteria, tétanos y tos ferina de células enteras (DTPe), o bien una combinada contra la difteria y el tétanos (DT). Y hace más de veinte que se aplica en una sola inyección la vacuna conocida como "triple vírica" contra el sarampión, la rubéola y la parotiditis. También podría incluirse aquí la vacuna antipoliomielítica porque en realidad se trata de una vacuna combinada contra tres tipos diferentes del virus poliomiélico. En todo caso durante muchos años el número de antígenos de diferentes especies microbianas combinados en una sola vacuna no ha pasado de tres. La novedad consiste en el progresivo aumento de antígenos de especies microbianas diversas que en los últimos años se está consiguiendo hacer compatibles para administrarlos en una sola inyección.

Para la comercialización de cada nueva vacuna combinada las autoridades sanitarias exigen toda una serie de ensayos clínicos previos que demuestren la eficacia inmunológica de cada antígeno, la no interferencia en la respuesta inmunitaria de unos antígenos con otros y que los efectos adversos tanto locales como generales no sean mayores que los que se presentan tras la administración de cada vacuna por separado<sup>7</sup>. Habiendo superado todos estos pasos<sup>8-10</sup>, la vacuna contra las infecciones por el virus de la hepatitis B (VHB) se ha incluido en varias vacunas combinadas a las que nos referiremos seguidamente.

## EL VIRUS DE LA HEPATITIS B Y SU INFECCIÓN

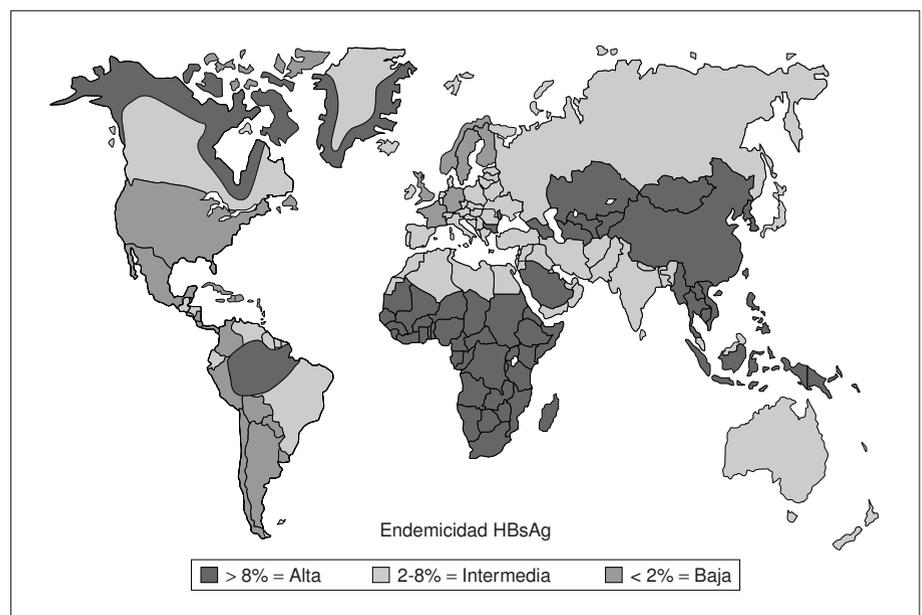
La infección por el VHB es una de las más frecuentes de la especie humana. Se calcula que actualmente hay en el mundo unos 350 millones de portadores crónicos del vi-

rus y alrededor de 90 millones desarrollan la enfermedad. Entre uno y dos millones de personas mueren anualmente en el mundo a causa de la hepatitis B o sus secuelas: insuficiencia hepática, cirrosis, carcinoma hepatocelular primario. La hepatitis B es responsable del 75 al 90 % de estos carcinomas<sup>11</sup>. La distribución de estas cifras en las distintas áreas geográficas es muy irregular. En España se encuentra entre las de incidencia media-baja (entre 100 y 150 casos por 100.000 habitantes al año)<sup>12</sup> siendo mayor en adolescentes y adultos jóvenes (fig. 1). Entre las embarazadas la prevalencia del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) está en torno al 1% con el 6% de ellas portadoras del antígeno "e" que marca la contagiosidad para sus futuros hijos<sup>13</sup>.

El VHB, que infecta sólo a la especie humana, es el más pequeño de los virus ADN conocidos. Presenta grandes dificultades de aislamiento y cultivo. Es una partícula con una doble cubierta: la externa contiene glucoproteínas y el antígeno de superficie (HBsAg) y la interna, que es la cápside viral, contiene el antígeno *core* (HBcAg) y el mencionado antígeno "e" (HBeAg). Las moléculas del HBsAg se producen en exceso y son expulsadas por las células infectadas que circulan libremente en forma de partículas esféricas o filamentosas<sup>14</sup>.

El virus se encuentra sobre todo en la sangre de los enfermos o portadores. En concentraciones mucho menores puede demostrarse también en semen y saliva. Las principales vías de transmisión son la parenteral (hepatitis de las jeringuillas), la sexual y la vertical de madre a hijo, sobre todo durante el parto. El mayor riesgo de transmisión vertical lo ofrecen las madres con HBeAg en su suero.

Se ha comprobado que el riesgo de evolución hacia la cronicidad y, en consecuencia, hacia la cirrosis y el carcinoma hepatocelular, es tanto mayor cuanto menor sea la



**Figura 1.** Prevalencia mundial de la hepatitis B. Tomada de OMS (1998).

edad en que el paciente se infecta. En consecuencia interesa mucho evitar la infección en los niños desde el momento del nacimiento.

El período de incubación es muy largo, de 45 a 180 días. Los síntomas son muy variables y van desde la carencia total de manifestaciones clínicas en la mitad de los casos hasta las formas mortales fulminantes. En general aparecen náuseas, vómitos, anorexia, astenia, febrícula, dolor abdominal e ictericia. También son frecuentes las artralgias y un exantema en los primeros días de la enfermedad.

## DISTINTOS TIPOS DE VACUNAS ANTI-VHB

Los primeros intentos de preparar una vacuna contra el VHB se remontan a principios de la década de 1970, cuando Krugman sometió a ebullición durante 1 min suero de pacientes con hepatitis B y lo administró a niños susceptibles. Se demostró que no aparecía la infección pero sí provocaba la producción de anticuerpos protectores. Posteriormente esta vacuna se purificó y pudo obtenerse a partir del plasma de portadores crónicos asintomáticos del antígeno de superficie del VHB sometido a técnicas de inactivación del virus por el calor<sup>15</sup>. Debido a su origen estas vacunas de primera generación recibieron el nombre de vacunas plasmáticas.

Teóricamente estas primeras vacunas no contenían viriones completos y, en consecuencia, no tenían riesgo de propagar la infección. A principios de la década de 1980 su uso iba generalizándose en todo el mundo cuando emergió la epidemia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Este hecho fortuito creó recelos y muchos creyeron ver una relación de causa a efecto, en ningún momento demostrada y hoy completamente descartada, que supuso un importante freno a la difusión de la vacuna.

Las vacunas plasmáticas se empezaron a utilizar en grupos de riesgo (homosexuales, drogadictos, personal sanitario) y demostraron su eficacia en estos colectivos. Sin embargo, pronto se identificaron algunas causas que empobrecían la respuesta inmunitaria: obesidad, administración intraglútea, individuos con elevada población de linfocitos supresores, inmunodeficiencias.

Una aplicación muy útil de las vacunas plasmáticas fue su uso postexposición administrada junto a la inmunoglobulina específica. Los pediatras utilizamos esta combinación de inmunoterapia activa y pasiva en la prevención de la transmisión vertical de la hepatitis B, cosa que se conseguía en el 90% de los recién nacidos de madres HBsAg positivas y HbeAg positivas.

A pesar de la eficacia protectora y de la práctica ausencia de efectos adversos, las vacunas plasmáticas presentaban serios inconvenientes de producción, ya que se obtenían del plasma de portadores cuyo número el uso de la propia vacuna iba reduciendo. Esto estimuló la creación de nuevas vacunas no sometidas a tan importante limitación. El objetivo se consiguió en 1986 con la

introducción de vacunas de segunda generación que desplazaron casi por completo a las plasmáticas.

Las nuevas vacunas, que son las que se utilizan hoy en todo el mundo, se obtienen por recombinación genética. Esta vacuna anti-VHB es la primera de uso universal obtenida por este procedimiento y abre un prometedor camino para la fabricación de otras vacunas. La técnica fue posible cuando se descubrió la secuencia del ADN que en el VHB codifica la síntesis del HBsAg. Este gen, llamado "gen S" se fusiona a un plásmido vector a través del cual se realiza su clonación en células procariotas (*Escherichia coli*) o eucariotas (*Saccharomyces cerevisiae*) que automáticamente fabrican la vacuna. La técnica más utilizada es la que usa la levadura de la cerveza *S. cerevisiae*<sup>16</sup>.

Las ventajas que presentan estas vacunas de segunda generación son muy importantes. A parte de permitir una producción ilimitada con el consiguiente abaratamiento del precio, el uso de un microorganismo de presencia tan universal como la levadura de cerveza descarta prácticamente la posibilidad de reacciones anafilácticas. Su capacidad inmunogénica es tan excelente como la de las vacunas plasmáticas. La incorporación a los calendarios universales de más de 110 países es buena prueba del éxito de estas vacunas (fig. 2).

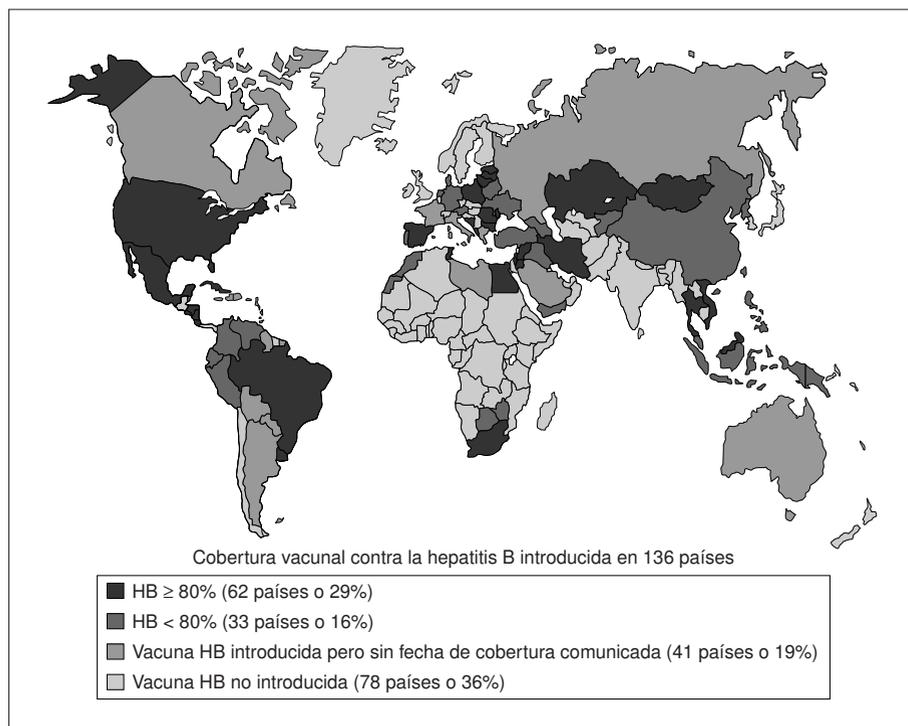
Buscando el progresivo perfeccionamiento de las vacunas a base de potenciar su efecto inmunógeno, facilitar su administración y disminuir sus efectos adversos se está trabajando con nuevas vacunas que podrían calificarse de "tercera generación" obtenidas también por recombinación genética pero en células de mamífero<sup>17</sup>. Estas vacunas no sólo contienen la pequeña proteína S no glucosilada de la cubierta del virus (como las de segunda generación) sino también los antígenos S glucosilado, pre-S<sub>2</sub> y/o pre-S<sub>1</sub> (con algunas variaciones según los distintos fabricantes). La adición de estos nuevos componentes hace que la vacuna proporcione una gran protección ya a partir de la primera dosis, necesitándose tan sólo una segunda dosis para conseguir una protección completa.

Todavía existe otra línea experimental con nuevas vacunas contra el VHB basadas en péptidos sintéticos que reproducen *in vitro* la secuencia de aminoácidos del principal polipéptido estructural de la cubierta del virus. Estos péptidos poseen escasa capacidad inmunogénica por lo que precisan proteínas transportadoras capaces de provocar un mayor estímulo antigénico. Sólo en un futuro se verá la utilidad práctica de estas vacunas<sup>18</sup>.

## PAUTAS DE VACUNACIÓN

Después de muchos ensayos con diversas dosis y pautas se llegó a la conclusión de que la dosis mínima efectiva para inmunocompetentes es de 5 µg. Sin embargo, para asegurar una protección prolongada y compensar las variaciones individuales en la respuesta inmunitaria se recomiendan dosis más altas. Las dosis recomendadas

**Figura 2.** Cobertura vacunal contra la hepatitis B. Tomada de WHO/UNICEF joint reporting form, 2000 & WHO country information, 2001.



**TABLA 1.** Dosificación de las vacunas anti-VHB disponibles en España

	Recombivax HB®		Engerix-B®	
	µg	ml	µg	ml
Recién nacidos de madres portadoras de HBsAg	5	0,5	10	0,5
Niños menores de 11 años	2,5	0,5	10	0,5
Adolescentes de 11 a 19 años	5	0,5	10*	1,0
Adultos de más de 19 años	10	1,0	20	1,0
Personas en hemodiálisis o inmunodeficientes	40	1,0	40	1,0

\*A partir de los 16 años dosis igual que los adultos.

para las vacunas anti-VHB utilizadas en España figuran en la tabla 1<sup>19</sup>.

La pauta vacunal incluye 3 dosis de las que las dos primeras representan la primovacunación y la tercera la de recuerdo. La primera dosis se administra en el "tiempo cero", la segunda al cabo de un mes y la tercera a los 6 meses de la primera. Si se necesita una protección rápida (p. ej., en viajeros internacionales) esta pauta (0-1-6 meses) puede acortarse a 0-1-2 meses, si bien en este caso se recomienda una dosis de recuerdo a los 12 meses de la primera (0-1-2-12 meses) para asegurar una protección prolongada. Esta última opción es la que se aconseja también en hemodializados, situaciones post-exposición y grupos en los que no se pueda garantizar la colaboración (drogadictos, reclusos). Pautas todavía más cortas (0-2-6 semanas) se han propuesto para la inmunoterapia postexposición después de una inoculación accidental con sangre contaminada por el VHB.

La vía de administración más recomendada, tanto para las vacunas plasmáticas como para las recombinantes, es la intramuscular: en los recién nacidos en el vasto externo y en el resto de los niños en el deltoides. Con la inyección intraglútea la absorción es irregular y los resultados dudosos. La vía subcutánea es menos inmunógena y sólo se recomienda en pacientes con trastornos de la coagulación en los que está contraindicada la vía intramuscular.

Las vacunas anti-HBV han de conservarse a una temperatura entre 2 y 8 °C. La congelación produce un daño irreversible por lo que nunca debe utilizarse una vacuna que haya resultado accidentalmente congelada.

#### RESULTADOS DE LA VACUNACIÓN

Con la pauta habitual de 0-1-6 meses se consiguen unos niveles de anticuerpos anti-HBs protectores ( $\geq 10$  mU/ml) en el 95% de los niños y adolescentes y en

el 90% de los adultos. Las respuesta inmunitaria va disminuyendo al avanzar la edad, sobre todo a partir de los 40 años, y es menor en inmunodeficientes, alcohólicos crónicos, obesos y adictos a drogas parenterales y al tabaco. Excepcionalmente hay infecciones por VHB mutados en cuyo caso la protección con esta vacuna es dudosa.

El uso masivo de la vacuna no sólo ha hecho disminuir las cifras de morbilidad y mortalidad por hepatitis B, sino también las de portadores sanos del virus.

No disponemos de datos de portadores sanos de España, pero sí de Italia, donde en 1991 se adoptó la vacuna para todos los recién nacidos, adolescentes de 12 años y grupos de riesgo. El porcentaje de portadores, que era del 3,4 en 1985 pasó al 0,9 en 1996.

No se conoce todavía con exactitud la duración de la protección proporcionada por la vacuna anti-VHB. Los títulos de anticuerpos séricos van disminuyendo de forma paulatina. A los 5 años, el 90% y a los 7 años, el 50-70% de los vacunados siguen teniendo anticuerpos anti-HBs. No obstante, el descenso de anticuerpos hasta valores indetectables no significa el cese de la protección frente a la infección por el VHB, ya que puede persistir intacta la memoria inmunológica de las células B: una exposición a material infectado por el virus induciría un efecto *booster* y reaparecerían los anticuerpos anti-HB séricos. Por esta razón, en sujetos sanos no parece justificada la administración sistemática de dosis de recuerdo, cosa que sí que se recomienda, por ejemplo, en los hemodializados<sup>20</sup>.

En España, han existido dos pautas vacunales en las diversas comunidades autónomas: en unas se vacunan todos los recién nacidos y en otras los adolescentes entre 12 y 14 años. Actualmente en unas autonomías se vacunan los recién nacidos, aproximadamente en la mitad se sigue la pauta de 0-2-6 meses y en el resto la de 2-4-6 meses coincidiendo con las otras vacunas del calendario universal. Parece ser que la vacunación universal en los días inmediatos al parto no supone ninguna ventaja y muchos autores propugnan la pauta de 2-4-6 meses reservando la vacunación neonatal a los hijos de madres infectadas por el VHB<sup>21</sup>.

### LIMITACIONES DE LA VACUNA ANTI-VHB

Los efectos adversos de esta vacuna también son escasos, sobre todo en niños y adolescentes. Se han comunicado algunos casos de hipersensibilidad con aparición de urticaria, prurito, eritema nudoso y asma, sobre todo después de la segunda dosis de vacuna. Es posible que estas reacciones, o al menos parte de ellas, no se deban propiamente a la vacuna, sino al tiomersal utilizado como conservante. El contenido en mercurio de este conservante puede resultar peligroso en recién nacidos de muy bajo peso.

La vacuna contra la hepatitis B no tiene contraindicaciones, ni siquiera en embarazo. Las mujeres embarazadas pueden ser vacunadas en cualquier momento de la

gestación. Sin embargo, no se recomienda a los prematuros de menos de 2.000 g y debe esperarse a que alcancen este peso, a no ser que sean hijos de madres portadoras del HBsAg. En este último caso se seguirá la pauta de 0-1-6 meses y conviene efectuar la determinación de marcadores para confirmar la aparición de anticuerpos anti-HBs y la negativización del HBsAg<sup>22</sup>.

### VACUNAS COMBINADAS QUE INCLUYEN LA ANTI-VHB DISPONIBLES EN ESPAÑA

Desde el punto de vista práctico, excepto en su aplicación al recién nacido, la administración de la vacuna anti-VHB puede realizarse utilizando su inclusión en vacunas combinadas. En España se dispone de las siguientes vacunas combinadas que incluyen la antihepatitis B (HB):

1. Vacuna combinada DTPe y HB (Tritanrix HepB®).
2. Vacuna combinada HB-HA (Twinrix®) comercializada para pediatría con 10 µg y para adultos con 20 µg de HBsAg.
3. Vacunas combinadas de HB con múltiples antígenos, entre ellas las hexavalentes DTPa-VPI-Hib-HB de ellas la de GSK (Infanrix Hexa®) contiene 10 y la de Aventis-Pasteur-MSD (Hexavac®) 5 µg de HBsAg.

### INMUNOGENICIDAD, SEROPROTECCIÓN Y REACTOGENICIDAD DE LA VACUNA ANTI-VHB INCLUIDA EN VACUNAS COMBINADAS

Ya son numerosos los estudios que demuestran que la respuesta inmunológica, la protección clínica y los efectos secundarios de la vacuna anti-HBV es muy similar cuando se administra aislada o cuando se hace formando parte de una vacuna combinada. Son diversos los trabajos que hablan a favor de que cuanto mayor es la separación entre la segunda y tercera dosis mayor es la producción de anticuerpos. Pueden citarse, por ejemplo, el de Mahoney et al<sup>23</sup> en el que informan que la proporción de niños que alcanzaron niveles protectores fue del 98% en los que siguieron la pauta 2-4-6 meses y del 100% en los que siguieron la de 0-1-6 meses. Los efectos secundarios fueron muy similares en ambos grupos<sup>24</sup>. La administración simultánea de la vacuna anti-Hib y de las otras cinco, bien en la misma inyección o en dos inyecciones separadas, no mostró diferencias ni en la inmunogenicidad ni en la reactogenicidad<sup>25</sup>.

Todos estos resultados avalan la confianza en los buenos resultados de las vacunas combinadas hexavalentes DTPa + IPV + HB + Hib por lo que respecta a todos y cada uno de sus componentes.

En cualquier caso, las campañas de vacunación son un factor decisivo en la lucha contra la hepatitis B, pero no el único. No se ha de descuidar el resto de medidas profilácticas que, compartidas en líneas generales con las medidas preventivas frente a las infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), deberán ser per-

manentemente recordadas, sobre todo entre los grupos de riesgo, como pueden ser los adolescentes y los drogadictos por vía parenteral.

## CONCLUSIONES

1. La vacuna contra las infecciones por el VHB obtenida por recombinación genética proporciona una eficaz protección frente a estas infecciones disminuyendo tanto la incidencia de la enfermedad, en más del 95 %, como el número de portadores sanos.

2. La inmunogenicidad y la reactogenicidad de esta vacuna es la misma si se administra aisladamente o formando parte de vacunas combinadas. Tampoco se demuestra ninguna influencia de la vacuna anti-VHB respecto al resto de componentes de estas vacunas.

3. Particularmente útil resulta la vacuna hexavalente que incluye la anti-*pertussis* acelular y la antipolio inactivada, ya que incorpora dos importantes mejoras respecto a anteriores vacunas de este tipo.

4. Las pautas vacunales recomendadas para la vacuna anti-VHB pueden sincronizarse perfectamente con el resto del calendario vacunal con lo que facilita su cumplimiento.

5. Utilizando la vacuna hexavalente en la pauta 2-4-6 meses podría prescindirse de la vacunación universal anti-VHB a todos los recién nacidos, reservándose la vacuna monovalente anti-VHB a los recién nacidos hijos de madres infectadas a quienes se les administrará además la inmunoglobulina específica anti-VHB.

## BIBLIOGRAFÍA

- Katz SL. Future vaccines and a global perspective. *Lancet* 1997;350:1767-70.
- Centres for Disease Control and Prevention. Recommended childhood immunization schedule: United States 2001. *MMWR* 2001;560:7-10.
- Decker DM. Principles of pediatric combination vaccines and practical issues related to use in clinical practice. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:S10-8.
- Arístegui Fernández J. Vacunas pediátricas combinadas. En: De Juanes JR, editor. Actualización en vacunas 2001. Madrid 2001; p. 11-5.
- Yeh SH, Ward JI. Strategies for development of combination vaccines. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:S5-9.
- Glodé MP. Combination vaccines: Practical consideration for public health and private practice. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20S:19-22.
- Decker MD, Edwards KM. Issues in design of clinical trials of combination vaccines. En: Williams JC, Goldenthal KL, Buru DC, Lewis BP Jr, editors. Combined vaccines and simultaneous administration: Current issues and perspectives. *Ann NY Acad Sci* 1995;754:234-40.
- André FE. The way forward: Combined vaccines [resumen]. Extend abstracts from the IX International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Diseases. Rome, 1996.
- Usonis V, Bakesenas V, Willems P, Clemens R. Feasibility study of a combined diphtheria-tetanus-acellular pertussis-hepatitis B (DTPa-HepB) vaccine, and comparison of clinical reactions and immune responses with diphtheria-tetanus-acellular pertussis (DTPa) and hepatitis B vaccines applied mixed or injected into separate limbs. *Vaccine* 1997;15:1680-6.
- Pichichero ME, Passador S. Administration of combined diphtheria and tetanus toxoids and pertussis – hepatitis B vaccine and *Haemophilus influenzae* type b (Hib) vaccine to infants and response to a booster dose of Hib conjugate vaccine. *Clin Infect Dis* 1997;25:1378-84.
- WHO. Progress in the control of viral hepatitis. Memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ* 1988;66:443-55.
- Zuckerman AJ. The development of novel hepatitis B vaccines. *Bull World Health Organ* 1987;65:265-75.
- Asociación Española de Pediatría, Comité Asesor de Vacunas. Manual de Vacunas en Pediatría, edición 2001, 176.
- Robinson WS, Lutwick LI. The virus of hepatitis type B. *N Engl J Med* 1976;295:1232-6.
- Krugman S, Giles JP, Hamond J. Viral hepatitis type B (MS-2) strain: Studies on active immunization. *JAMA* 1971;217:41-5.
- Hilleman MR, Ellis R. Vaccines made from recombinant yeast cells. *Vaccine* 1986;4:75-6.
- Zuckermann AJ. New hepatitis B vaccines. *BMJ* 1985;290:492-6.
- Brown SE, Howard CR, Zuckerman AJ, Steward MV. Affinity of antibody responses in man to hepatitis B vaccine determines with synthetic peptides. *Lancet* 1984;2:184-7.
- Asociación Española de Pediatría. Comité Asesor de Vacunas. Manual de Vacunas en Pediatría. Edición 2001;182.
- Mintai Z, Kezhou L, Lieming D, Smego RA Jr. Duration and efficacy of immune response to hepatitis B vaccine in high risk Chinese adolescents. *Clin Infect Dis* 1993;16:165-7.
- Blatter M, Pichichero M, Harrison C, et al. A combination DTPa-HepB-IPV/Hib vaccine administered to infants at 2, 4 and 6 months of age with or without a hepatitis B vaccine birth dose (Abstract). *Clin Infect Dis* 2000;31:321.
- Bayas JM, Bruguera M. Vacunas antihepatitis B. En: Salleras Sanmartí L, editor. Vacunaciones preventivas. Barcelona: Masson, 1998; p. 207-27.
- Mahoney FJ, Smith N, Alter MJ, Margolis H. Progress towards elimination of hepatitis B virus in the United States. *Viral Hepatitis Rev* 1997;3:105-9.
- Greenberg DP. Considerations for hepatitis B as part of a combination vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:S34-9.
- Schmitt HJ, Knuf M, Ortiz E, Sängner R, Uwamwezi MC, Kaufhold A. Primary vaccination of infants with diphtheria-tetanus-acellular pertussis-hepatitis B virus-inactivated polio virus and *Haemophilus influenzae* type b vaccines given as either separate or mixed injections. *J Pediatr* 2000;137:304-12.