

Evaluación De la inmunidad contra el tétanos y la difteria en trabajadores del Instituto Finlay ocupacionalmente expuestos a riesgos

Rolando Fernández, Rolando Ochoa, Beatriz Agüero.

Instituto Finlay. Centro de Investigación-Producción de Vacunas y Sueros. Ciudad de La Habana. Cuba.
E-mail: rofernandez@finlay.edu.cu

El Instituto Finlay es un centro rector en la producción e investigación de vacunas, en él laboran técnicos e investigadores encargados del desarrollo y la producción de la vacuna múltiple DPT, los cuales, al estar en contacto directo con los microorganismos necesarios para su producción, constituyen un personal con riesgo de contraer una de estas enfermedades infecciosas. Es importante disponer de vacunas eficaces que minimicen los riesgos por la exposición a agentes biológicos patógenos durante el trabajo, las cuales deben ser aplicadas siguiendo un esquema de inmunización que garanticen una adecuada protección. Debido a la carencia en nuestro país de datos sobre el estado de inmunidad de trabajadores expuestos laboralmente contra estas enfermedades y dada la importancia de esta información para la aplicación de un esquema de inmunización que cumpla con un criterio real de protección, nos propusimos realizar este trabajo. Para el desarrollo del mismo se suministró una dosis de refuerzo de una vacuna combinada de toxoide tetánico y diftérico a un grupo de trabajadores expuestos; los títulos fueron determinados antes y después de la vacunación por métodos inmunoenzimáticos. La mayor parte de los trabajadores presentaban al inicio del estudio un nivel adecuado de antitoxina tetánica, sin embargo se demostró una inadecuada protección para el caso de la difteria antes de la inmunización, por otra parte el empleo de una dosis de DT no parece que sea suficiente para inducir una respuesta antidiftérica duradera, por lo que se propuso modificar el esquema actual de vacunación de los trabajadores.

Palabras claves: Tétanos, Difteria y Bioseguridad.

Introducción

Una buena actuación en prevención de riesgos laborales implica evitar o minimizar las causas de los accidentes y de las enfermedades derivadas del trabajo. Las organizaciones deben dar la misma importancia a lograr un alto nivel en la gestión de la prevención de riesgos laborales como en otros aspectos fundamentales de la actividad empresarial (1). El riesgo de adquirir una enfermedad infecciosa en el puesto de trabajo es inherente a la propia labor de los profesionales que laboran en las instalaciones de salud, ya sea en laboratorios de investigación, producción o de servicios. El organismo regulador de la Seguridad Biológica en Cuba así lo reconoce y, por ello, plantea que los recursos financieros que se asignen para garantizar las tareas relacionadas con la seguridad biológica deben ser los necesarios para proveer al trabajador de buenas

condiciones en el lugar de trabajo; equipos de protección individual; disponibilidad de la información necesaria; manual de seguridad donde se contemplen los procedimientos de seguridad biológica en los respectivos planes de emergencia; vigilancia médica sistemática; y la inmunización de cada trabajador expuesto a riesgo (2) siempre que se disponga de vacunas eficaces para evitar una posible enfermedad infecciosa con el microorganismo al cual se encuentra expuesto.

El desarrollo de la Biología ha posibilitado por una parte la aparición de una amplia gama de laboratorios para el diagnóstico y la investigación de toda clase de microorganismos y por otra la aparición de instituciones que producen vacunas y otros preparados biológicos o que se dedican a la manipulación genética, por lo que la protección

de los trabajadores de tales instalaciones ha adquirido una importancia considerable (2).

La particularidad principal del trabajo en estas instalaciones la constituye el riesgo de contaminación directa del personal que trabaja con microorganismos patógenos, con la aparición de la correspondiente enfermedad infecciosa. Estas instalaciones son, por tanto, fuentes potenciales de contaminación tanto del personal como del medio ambiente ya que si bien los equipos y sistemas de seguridad han evolucionado paralelo al desarrollo de la microbiología minimizando los casos de contaminación, esto no elimina en su totalidad el riesgo biológico.

La contaminación del personal de tales laboratorios se ha presentado en el transcurso de todo el período de existencia de esta disciplina y es un elemento confirmativo del riesgo profesional asociado con el trabajo en tales instalaciones (2). Por tanto, cobra cada vez más importancia el hecho de poner a disposición de los profesionales de la salud, vacunas eficaces que minimicen los riesgos que se derivan de la exposición a agentes biológicos patógenos durante el trabajo, las cuales deben ser aplicadas siguiendo un esquema de inmunización que garantice una adecuada protección.

Para el diseño de programas de vacunación efectivos es de crucial importancia el conocimiento de la duración de la inmunidad. Para el mundo actual es preocupante la aparición de enfermedades reemergentes, como la difteria, que se creían controladas por la vacunación (3). La causa de este resurgir ha sido la existencia de personas susceptibles a contraer esta enfermedad; es decir, individuos con bajos niveles de inmunidad. Por otra parte, existen enfermedades, como el tétanos, que pueden aparecer en personas previamente vacunadas (4).

En nuestro Instituto existe un grupo de técnicos e investigadores encargados del desarrollo y la producción de la vacuna múltiple compuesta por toxoide tetánico, toxoide diftérico y pertusis (DPT) los cuales, al estar en contacto directo con estos microorganismos constituyen un personal expuesto a riesgo sobre el que hay que extremar las medidas de vigilancia y protección.

Debido a la carencia en nuestro país de datos sobre el estado de inmunidad de trabajadores expuestos laboralmente contra estas dos enfermedades, y dada la importancia de esta información para la aplicación de un esquema de inmunización que cumpla con un criterio real de protección, nos hemos propuesto la realización del este trabajo.

Materiales y Métodos

Metodología general

Se realizó un estudio prospectivo, no controlado, entre el 1997 y el 2002, en 22 trabajadores del Instituto Finlay con riesgo laboral de contraer tétanos o difteria, para evaluar el nivel inmunitario y el grado de protección alcanzado por cada trabajador después de recibir una dosis de refuerzo de la vacuna combinada de toxoide tetánico y diftérico, formulación para adultos (CONNAUGHT), así como para evaluar la variación de la inmunidad 5 años después de la primera reinmunización.

T0: Extracción antes de la primera inmunización con DT en 1997.

T1: Extracción 1 mes después de la primera inmunización con DT en 1997.

T2: Extracción 5 años después de la primera inmunización con DT.

T3: Extracción 1 mes después del refuerzo en el año 2002.

Muestra

Se incluyó en el estudio a todos los trabajadores del Instituto Finlay que por su trabajo se encontraban expuestos a adquirir el tétanos y la difteria, durante los años 1997 y 2002

Criterios de inclusión en el estudio

- ✓ Pertener al grupo con riesgo laboral.
- ✓ Haber manifestado el consentimiento de participación. Buen estado de salud, establecido por criterio clínico, mediante examen clínico en el Consultorio Médico del Instituto Finlay, antes de comenzar el estudio.

Criterios de exclusión

- ✓ Presentar alguna enfermedad crónica descompensada como asma bronquial, cardiopatía, hepatopatía, nefropatía, diabetes

u otras, en el momento de la inmunización o extracción de sangre.

- ✓ Padecer alguna enfermedad infecciosa aguda en el momento de la inmunización o extracción de sangre.
- ✓ Estar bajo tratamiento inmunosupresivo (por más de 14 días) u otro tipo de medicamento que modifique el estado inmunológico, excluyendo los esteroides tópicos o por inhalación.
- ✓ Padecer alguna enfermedad del sistema hematopoyético (anemias y otras).
- ✓ Haber recibido inmunoglobulinas u otros derivados de la sangre en los 3 meses precedentes al estudio.
- ✓ Uso de algún medicamento experimental 30 días antes del inicio del estudio o durante su desarrollo.
- ✓ Temperatura axilar $\geq 37,5$ °C.
- ✓ Historia de consumo crónico de alcohol y/o abuso de drogas intravenosas.
- ✓ Incumplimiento del esquema de vacunación para el tétanos y la difteria.

Inmunización

Esquema empleado: Dosis única de 0,5 mL por vía intramuscular. Se utilizaron agujas 21 G/0,8 mm x 1,5" (25-40 mm). La vacuna se administró en la región deltoidea del miembro superior no dominante. Todo el material que se utilizó fue desechable y de uso individual

Obtención de la muestra de suero

Materiales y reactivos:

- ✓ Ligadura para venopuntura
- ✓ Torundas de gasa estériles
- ✓ Alcohol etílico al 70%
- ✓ Jeringas de 5 mL desechables
- ✓ Tubos estériles de cristal con tapa
- ✓ Gradillas para tubos
- ✓ Bolsa isotérmica
- ✓ Criotubos estériles
- ✓ Centrífuga para 600 –1500 g (HITACHI, HIMAC SCT5BA)

Extracción, traslado y conservación de las muestras

Se realizó punción venosa para la extracción de 2 mL de sangre. Cada muestra fue rotulada e

identificada debidamente. Se vertió la sangre en un tubo de ensayo estéril y se mantuvo a temperatura ambiente hasta que se logró la retracción espontánea del coágulo. Las muestras fueron centrifugadas a 1000 g y se decantó el mayor volumen de suero posible en gabinete de seguridad biológica, envasándose en criotubos estériles. Los sueros fueron conservados a -20°C hasta su evaluación en el Laboratorio de Inmunoquímica de la Dirección de Asistencia Científica Técnica Aplicada del Instituto Finlay.

Esquema de extracción: La muestra de suero se tomó antes de cada inmunización y un mes después de inmunizados.

Cuantificación de antitoxina tetánica y diftérica por ELISA

Materiales y Reactivos:

- Placas de poliestireno de 96 pocillos (Costar EIA/RIA Cat. No 3590).
- ✓ Micropipetas automáticas de 5, 10, 40, 100 y 1000 μ L con las puntas correspondientes
- ✓ Incubadora a 37°C
- ✓ Canales para reactivos
- ✓ Lector de microELISA con filtro de 405 nm (Anthos Labtec Instruments)
- ✓ Lavador de placas de microELISA (DENLEY)
- ✓ Balanza analítica (Sartorius)
- ✓ Cristalería apropiada (beaker, probetas y pipetas serológicas de diferentes volúmenes)
- ✓ Toxoide diftérico purificado (Instituto Finlay)
- ✓ Leche descremada (Merck)
- ✓ Polioxietilen Sorbitan Monolaurato (Tween 20) (Sigma Cat. N° P-1379)
- ✓ Conjugado anti-IgG humana-fosfatasa alcalina (Sigma Cat. N° A-0287)
- ✓ p-Nitrofenilfosfato (PNPP)(Sigma 104) (Sustrato en tabletas de 5 mg)
- ✓ Solución salina tamponada con fosfato 0,15 M, pH 7,2 (SSTF)
- ✓ SSTF + Tween 20 al 0,05% v/v (Solución de lavado)
- ✓ Tampón carbonato-bicarbonato 0,05 M, pH 9,6 (Tampón de recubrimiento)
- ✓ SSTF + Leche descremada al 3% p/v + Tween 20 al 0,05% v/v (Tampón diluyente de muestras y conjugado)

- ✓ Tampón dietanolamina 0,92 M, pH 9,8 (Tampón para el sustrato)

ELISA

Las placas recubiertas con toxoide tetánico o diftérico se incubaron durante 16 h a 4 °C en cámara húmeda, se atemperaron entre 20-25 °C y luego fueron lavadas cuatro veces con 0,3 mL de solución de lavado en el Lavador de placas de microELISA (DENLEY) (5, 6). Se adicionaron los siguientes reactivos, siguiendo un protocolo y orden único: suero estándar respectivo (seis puntos), el blanco reactivo (diluyente de las muestras), el control positivo y las muestras. El control positivo y las muestras se añadieron diluidas 1:200 en el tampón de muestras y conjugado (rango de medición de 0,10-3,2 UI/mL). Luego de una hora de incubación a 37 °C en cámara húmeda y los correspondientes lavados se añadió un conjugado de carnero anti IgG humana-fosfatasa alcalina (SIGMA, Cat A-0287) diluido 1:2000 en el mismo tampón diluyente de las muestras. Seguidamente se incubó otra hora a 37 °C, se lavó y se añadió el sustrato. Como sustrato se empleó una solución de 1mg/mL de PNPP en tampón dietanolamina pH 9,8. Las placas se mantuvieron 30 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Posteriormente se leyeron en un lector de ELISA (Anthos Labtec Instruments) a 405 nm. Las muestras con valores de DO mayores que el primer punto de la curva (diluido 1:20) se repitieron diluidas 1:800 (rango de medición de 0,4-12,8 UI/mL). En caso necesario se emplearon mayores diluciones. Las que presentaron valores de DO menores que el sexto punto de la curva (diluido 1:640) se repitieron 1:20 (rango de medición de 0,01-0,32UI/mL). También se repitieron todas las muestras cuyos duplicados mostraron coeficientes de variación (CV) mayores que el 20%.

Cálculo de las concentraciones:

El ajuste y la verificación de la curva, así como el cálculo de la concentración de los sueros se obtuvieron a partir de la introducción de los datos directamente del lector al programa de cálculo ELISA (5,6). La cuantificación mediante la aplicación de este programa está basada en una transformación logistic-log con cuatro parámetros y compara el resultado de DO de la muestra en la dilución estudiada con la curva del estándar

encontrada por el propio sistema a través de un ajuste robusto.

Procesamiento estadístico de los datos

Se calcularon las concentraciones promedio y los intervalos de confianza (IC) al 95% antes y después de inmunizar, previa normalización logarítmica de los niveles de antitoxinas. En ambos casos los individuos se agruparon en intervalos según niveles de antitoxinas.

Actividad antitoxina (UI/mL)	Grado de Protección
< 0,01 UI/mL	No protegido
Entre 0,01 y 0,09 UI/mL	Inmunidad básica, protección no confiable.
> 0,1 UI/mL	Total protección. Protección adecuada.
> 1 UI/mL	Protección de larga duración.

Para conocer la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas antes y después de inmunizar, así como entre la primera y segunda reinmunización en aquellos trabajadores que los recibieron, se empleó la prueba T de Student ($\alpha=0,05$). Los grupos se compararon mediante la prueba de Mann-Whitney.

Resultados y Discusión

La evaluación de la inmunidad contra el tétanos y la difteria es muy importante para conocer la efectividad de un programa de vacunación. Los niveles de antitoxina $>0,01$ UI/mL se han correlacionado con protección, sobre todo cuando se emplean pruebas de neutralización (7, 8, 9). Los ensayos inmunoenzimáticos tipo ELISA, han sido muy útiles para la evaluación de la respuesta inmune inducida por vacunas de toxoide y para estudios seroepidemiológicos, debido a su simplicidad y el gran número de muestras que pueden ser procesadas. En este caso, los niveles de antitoxinas mayores a 0,1 UI/mL se han considerado como un nivel confiable de protección (7, 8, 9).

El esquema de inmunización empleado en nuestro país para proteger contra estas enfermedades consta de un esquema primario de tres dosis de la vacuna triple, Difteria-Tétanos-Pertussis (DTP) en el primer año de vida, seguida por un refuerzo con la vacuna doble Difteria-Tétanos (DT) a los

5-6 años de edad, coincidente con la entrada a la escuela. Posteriormente, se emplean dosis de refuerzo cada 10 años con Toxoide Tetánico (10;). El Instituto Finlay tiene un esquema de inmunización acorde con el riesgo laboral. Para el caso del tétanos, se han establecido refuerzos con el toxoide tetánico para los trabajadores ocupacionalmente expuestos a este microorganismo; para el grupo de trabajadores expuestos a *Corynebacterium diphtheriae* también se aplica la vacuna duple, formulación de Difteria-Tétanos (DT) para adultos, para la protección contra ambos microorganismos.

La primera vacunación con DT dirigida a los trabajadores en riesgo laboral de nuestro Instituto fue en 1997, la segunda fue en el año 2002. Del total de individuos inmunizados, 22 de ellos coincidieron con ambas aplicaciones y se les completó el esquema de toma de muestras de suero según protocolo, por lo que fue posible

estudiar más para evaluar la cinética de la respuesta inmune contra estos toxoides.

Antes de la inmunización el 27,27% de los individuos no se encontraban adecuadamente protegidos contra la difteria y sólo el 9,09% presentaban protección de larga duración (Tabla 1, Figura 1). Estos resultados coinciden parcialmente con los encontrados en un estudio de seroprevalencia en población abierta del municipio Alquízar (11), referente a los no adecuadamente protegidos; sin embargo, para el grupo de edad estudiado, los niveles de protección de larga duración son superiores, probablemente como resultado de la exposición natural. Una vez inmunizados la respuesta se incrementó cualitativamente, alcanzando cifras sobre el 60% de protección (Tabla 1, Figura 1) como respuesta a cada inmunización (T1 y T3), lo que coincide con lo reportado por otros autores en poblaciones de similares características a la estudiada (9, 12,13).

Tabla 1. Número (porcentaje) de trabajadores en riesgo laboral inmunizados con una vacuna DT para adultos, según los niveles de antitoxina diftérica.

Antitoxina diftérica (UI/mL)	Número (porcentaje)			
	T0	T1	T2	T3
<0,01	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0,01-0,099	6 (27,27)	0 (0)	8 (36,36)	0 (0)
0,10-1,0	14 (63,64)	8 (36,36)	13 (59,09)	7 (31,82)
>1,0	2 (9,09)	14 (63,64)	1 (4,55)	15 (68,18)

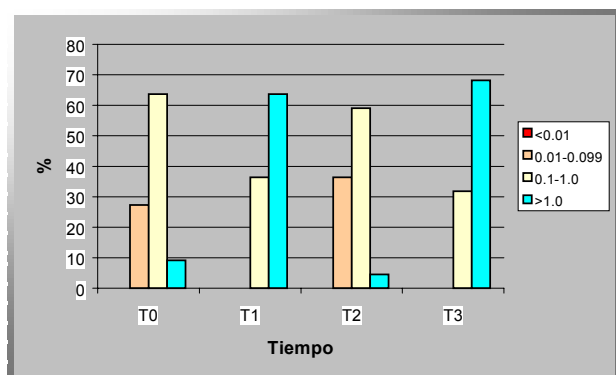
T0: Extracción antes de la primera inmunización con DT en 1997.

T1: Extracción 1 mes después de la primera inmunización con DT en 1997.

T2: Extracción 5 años después de la primera inmunización con DT.

T3: Extracción 1 mes después del refuerzo en el año 2002.

Figura 1. Porcentaje de trabajadores con riesgo laboral según los niveles de antitoxina diftérica



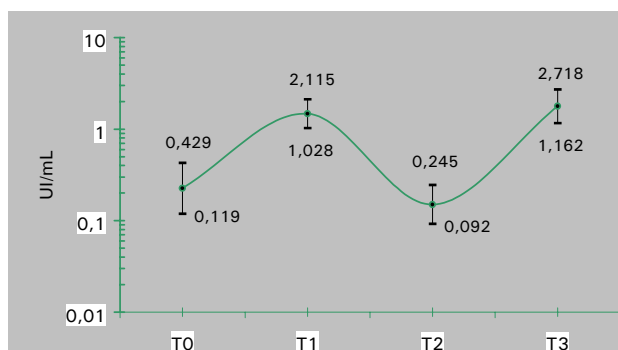
Llama la atención que 5 años después de la primera inmunización (T2) con DT, los niveles de antitoxina diftérica hayan descendido a los niveles iniciales ($p=0,31$), lo que pudiera estar relacionado con una pobre memoria inmunológica teniendo en cuenta que en el esquema cubano de inmunización la última inmunización contra la difteria es a los 5-6 años de edad y al hecho de la ausencia de exposición natural contra la difteria. No se encontraron tampoco diferencias postinmunización (T1 y T3) ($p=0,46$). La cinética de antitoxina diftérica, aunque mostró claramente el efecto de los refuerzos, produjo un descenso relativamente rápido de los niveles de

anticuerpos, tales como observamos anteriormente (Tabla 2, Figura 2).

Tabla 2. Títulos Medios Geométricos e Intervalos de Confianza al 95% de antitoxina diftérica, determinados por ELISA en 22 trabajadores en riesgo laboral inmunizados con una vacuna DT para adultos.

Tiempo de extracción	TMG (UI/mL)	IC 95% (UI/mL)
T0	0,226	0,119 – 0,429
T1	1,474	1,028 – 2,115
T2	0,150	0,092 – 0,245
T3	1,777	1,162 – 2,718

Figura 2. Comportamiento cinético de la antitoxina diftérica en 22 trabajadores con riesgo laboral.



En correspondencia con lo anterior, hay que considerar lo siguiente: la Difteria ha reemergido en epidemias que involucran principalmente adultos y niños no inmunizados, afectando especialmente a los países de la antigua Comunidad Socialista. La brecha de la inmunidad en adultos unido a un elevado número de niños y

adultos susceptibles, y las condiciones sociales emanadas de la desintegración del sistema de salud precedente, las dificultades socio-económicas y conflictos militares crearon las bases para el resurgimiento de esta enfermedad (8, 9, 12; 14), lo que reafirma la necesidad de la reinmunización con este toxoide, máxime si la población es de riesgo laboral. Nuestro Ministerio de Salud Pública deberá valorar la modificación o no del Esquema Cubano de Inmunización. Estamos seguros de que si se modificase el esquema, la mayor parte de la población estaría adecuadamente protegida contra la difteria.

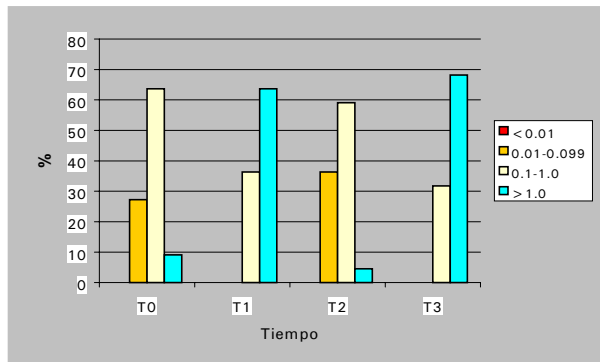
Atendiendo a los bajos niveles iniciales de antitoxina diftérica y la respuesta encontrada en nuestro estudio, y el esquema de inmunización vigente en Cuba, sugerimos modificar el esquema actual para los trabajadores ocupacionalmente expuestos a riesgo, de una dosis con DT cada 10 años, por un esquema inicial de dos dosis de 0,5 mL, con intervalo de dos meses y una tercera dosis a los 6-12 meses, y refuerzo a posteriormente cada 10 años, con chequeo periódico para evaluar la eficacia de la primovacunación utilizada.

Al evaluar el comportamiento de la antitoxina tetánica en esta muestra, observamos que los valores iniciales (T0) son similares a los encontrados en estudios anteriores para este grupo de edad (11), sólo 1 trabajador (4,55%) no se encontraba adecuadamente protegido, lo que está acorde con la política de inmunización de nuestro país. Después de la inmunización se obtuvo una protección de larga duración en el 90,91% de los individuos inmunizados (9). Al cabo de los 5 años (T2), y después del refuerzo subsiguiente (T3) se mantuvo la protección de larga duración en el 100 % de los trabajadores en riesgo evaluados (Tabla 3, Figura 3).

Tabla 3. Número (porcentaje) de trabajadores en riesgo laboral inmunizados con una vacuna DT para adultos, según los niveles de antitoxina tetánica.

Antitoxina tetánica (UI/mL)	Número (porcentaje)			
	T0	T1	T2	T3
<0,01	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0,01-0,099	1 (4,55)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0,10-1,0	9 (40,91)	2 (9,09)	0 (0)	0 (0)
>1,0	12 (54,55)	20 (90,91)	22 (100)	22 (100)

Figura 3. Porcentaje de trabajadores con riesgos laboral según los niveles de antitoxina tetánica

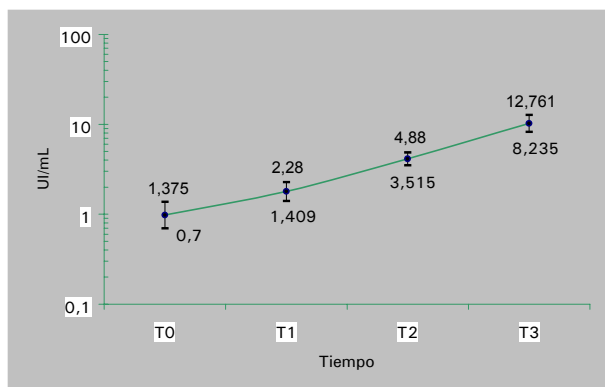


Llama la atención la cinética de anticuerpos en este caso, ya que no se observó la declinación a los 5 años de la primera inmunización con DT (T2), como esperábamos. Aunque cualitativamente los grupos T1, T2 y T3 fueron similares, todos difirieron estadísticamente ($p < 0,0001$), como puede apreciarse en la Tabla 4 y la Figura 4.

Tabla 4. Títulos Medios Geométricos e Intervalos de Confianza al 95% de antitoxina tetánica, determinados por ELISA en 22 trabajadores en riesgo laboral inmunizados con una vacuna DT para adultos.

Tiempo de extracción	TMG (UI/mL)	IC 95 % (UI/mL)
T0	0,981	0,700 – 1,375
T1	1,792	1,409 – 2,280
T2	4,142	3,515 – 4,880
T3	10,251	8,235 – 12,761

Figura 4. Comportamiento cinético de la antitoxina tetánica en 22 trabajadores con riesgo laboral.



Este comportamiento pudiera deberse a la coincidencia con las reinmunizaciones programadas según el Programa Cubano de Inmunización, el que contempla reinmunizaciones con toxoide tetánico en los adultos a los 25, 35, 45 y 55 años y luego cada 5 años, a los que se añaden las reinmunizaciones en cada embarazo. La hiperinmunización por otra parte puede conllevar riesgos lo que añade el aspecto ético del empleo de dosis de vacunas cuando estas no son necesarias. Por otra parte, es obvio que existe susceptibilidad a la difteria y que aparentemente los refuerzos no inducen una respuesta suficientemente duradera. Si sugiriéramos un refuerzo con DT con una periodicidad menor a los 5 años empleados, pudiéramos incrementar el riesgo de hiperinmunizar nuestros trabajadores contra el tétanos. Idealmente, nuestro Ministerio de Salud Pública debería modificar el esquema de inmunización, sustituyendo los refuerzos con TT por la bivalente DT. El chequeo previo de nuestros trabajadores, señalaría tan sólo aquellos en riesgo, susceptibles de una dosis de refuerzo.

Pudiéramos sugerir además la necesidad de una coordinación más estrecha entre nuestra Institución y los institutos especializados del Ministerio de Salud Pública para coordinar más eficazmente la política de inmunización institucional.

Referencias

1. UNE 81900: 196 EX. Prevención de Riesgo Laborales Reglas Generales Para la Implementación de un Sistema de Gestión para la Prevención de Riesgo Laborales (S.G.P.R.L.) *NORMA ESPAÑOLA PNE 81 900 I.C.S.: 13.100 ICS 13.100*. Junio 1996.
2. Dueñas J, Argote E, Orfelina R. Arce L, Hernández ML, Regalado L, et al. *Temas de Seguridad Biológica*. Primera edic. La Habana: Ed. Feliz Varela; 2001.
3. Galaszka A. The changing epidemiology of Diphtheria in the vaccine. *J. Infect Dis.* 2000; 181(supp 11): s 2-9.
4. Galazka AM. The immunological basis for immunization series. Module 3: Tetanus. Document WHI/EPI/GEN/93.13. Geneva: World Health Organization, 1993.
5. Martínez JO, Ochoa R, Cruces A, et al. Validation of an ELISA for the quantitation of diphtheria antitoxin in human serum.

- Biotecnología Aplicada* 2000;17:138-186.
6. Martínez JC, Ochoa R, Fajardo EM, et al. ELISA para la cuantificación de antitoxina tetánica en sueros humanos. En: *Elfos Scientiae* ed. Aplicaciones Médicas de la Biotecnología. Biotecnología. Habana'99. Libro de reportes cortos. *Avances en Biotecnología Moderna*. Ciudad de la Habana: 1999;5:D5.
 7. Durbaca S. Anti tetanus and anti diphtheria immunity in newborns. *Roum Arch Microbiol Immunol*. 1999; 58: 267 –72.
 8. Hasselhorn HM, Nubling M, Tiller FW, Hofmann F. Diphtheria booster immunization for adults. *Dtsch Med Wochenschr*. 1997;122(10):281-5.
 9. Galazka AM, Robertson SE. Immunization against diphtheria with special emphasis on immunization of adults. *Vaccine* 1996; 14(9):845-57.
 10. Cuba, Ministerio de Salud Pública, Dirección Nacional de Estadísticas. Anuario Estadístico de Salud 2002. Edición en formato electrónico. Ciudad de la Habana; MINSAP; 2003. <http://www.sld.cu/anuario/indice.html>)
 11. Peña GL. Seroprevalencia de antitoxina diftérica y tetánica en la población de Alquizar, Tesis para optar por el grado de Especialista de en I grado en Medicina General Integral, Instituto Superior de Ciencias Médicas de la Habana, Policlínico Docente de Alquizar, 1999.
 12. Rønne T, Valentelis R, Tarum S, et al. Immune response to Diphtheria booster vaccine in the Baltic states. *J Infect Dis*. 2000;181(suppl 1):S213-219.
 13. Maple PA., Jones CS, Wall EC, Vyseb A, Edmunds WJ, Andrews NJ et al. Immunity to diphtheria and tetanus in england and Wales. *Vaccine*. 2000; 19:167-73.
 14. Beyasova U, Guler E, Yucel A, sahin F. Diphtheria immunity of different age groups in Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2002, 55(2):52-4.

Tetanus and Diphtheria Immunity in at-risk labor force of Finlay Institute

Abstract

Finlay Institute is a leading center in vaccine production and research. This center has a highly qualified staff of technicians and researchers in charge of the development and production of the multiple DPT vaccine. All these people are at risk of acquiring anyone of these infectious diseases, while being in direct contact with the microorganisms needed for its production. It is quite important to have an efficient vaccine that minimizes the risks of exposure to infectious biological agents during research, which should be applied following an immunization schedule that guarantees adequate protection. Because of the lack of data in our country about the immunization status of exposed workers, and due to the importance of this information, we decided to carry out this project. For its development, a reinforced dose of a combined vaccine of tetanus and diphtheria toxoid, was applied to a group of exposed workers; the titers were determined before and after vaccination by immunoenzymatic methods. Most of these workers at the beginning of the study had an adequate level of tetanus antitoxin, however an inadequate protection for diphtheria was demonstrated before immunization. On the other hand, the application of a DT dose doesn't seem to be sufficient to induce a lasting antidiphtheric response. We recommend a modification in the current vaccination schedule.

Keywords: Tetanus, Diphtheria, Biosafety