

سنجش پاسخ ایمنی نوزادان به تزریق داخل جلدی با دوز پایین واکسن هپاتیت B

محمدجعفر صفار (M.D)* مهنوش کوثریان (M.D)** حمید محمد جعفری (M.D)***

چکیده

سابقه و هدف : آلودگی و عفونت با ویروس هپاتیت B، از شیوع بسیار بالایی برخوردار بوده و با عوارض دراز مدت غیر قابل درمانی همراه است. مؤثرترین راه کنترل آن پیشگیری از طریق انجام واکسیناسیون همگانی است. مهمترین مشکل ایمن سازی همگانی، هزینه بالای واکسن می باشد. یک راه حل مناسب کاستن از دوز واکسن بدون کاستن از توان ایمنی زایی آن خواهد بود. هدف مطالعه، انجام واکسیناسیون بر علیه بیماری هپاتیت B با دوز کم و به روش داخل جلدی می باشد.

مواد و روش ها : مطالعه تجربی از نوع کارآزمایی بالینی و بر روی ۱۱۳ نوزاد فول ترم متولد شده در بیمارستان امام خمینی ساری انجام شد. نمونه خون مادران نوزادان مورد مطالعه جهت HBsAg مورد بررسی و در صورت مثبت بودن، نوزادان آنان از مطالعه خارج شدند. مابقی نوزادان به طور تصادفی به دو گروه شاهد و مورد تقسیم شدند. گروه شاهد ۱۰ میلی گرم (۵/۰ میلی لیتر) از واکسن نوترکیبی هپاتیت B را به روش داخل عضلانی در ناحیه دلتوئید و گروه مورد ۲ میلی گرم (۱/۰ میلی لیتر) از همان واکسن را به روش داخل درمی در ناحیه قدام ساعد در زمان های بدو تولد، ۱/۵ و ۶ ماهگی دریافت کردند. پاسخ به واکسن ۴ تا ۶ هفته پس از آخرین دوز با اندازه گیری سطح آنتی بادی AntiHBs در سرم کودکان مورد مطالعه به روش الیزا و به صورت کمی انجام شد.

یافته ها : نتایج نشان داد که در گروه مورد ۱۹ نفر از ۲۳ نفر (۸۲/۶ درصد) و در گروه شاهد ۲۷ نفر از ۲۸ نفر (۹۶/۴ درصد) پاسخ سرولوژیک کامل ($10^{IU/ml} \leq$) داشتند که بر اساس آزمون کای دو تفاوت آنان معنی دار نبوده است، ولی تیتتر متوسط آنتی بادی (GMT)^(۱) در گروه مورد 447 ± 336 و در گروه شاهد 458 ± 378 بوده است که از این نظر تفاوت دو گروه معنی دار بوده است.

استنتاج : تزریق داخل جلدی با دوز کم واکسن هپاتیت B توان ایمنی زایی قابل قبولی داشته ولی برای تعمیم این روش به مطالعات تکمیلی با حجم نمونه بیشتر و نیز مطالعه سنجش بقاء ایمنی به فواصل ۵ و ۱ سال بعد نیاز می باشد.

واژه های کلیدی : هپاتیت B، واکسیناسیون داخل جلدی، دوز پایین داخل عضلانی

1. GMT= Geometric Mea Titer

* این تحقیق طی شماره ۴۸-۷۸ در شورای پژوهشی دانشگاه ثبت گردیده و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام پذیرفته است.

* دانشیار دانشگاه علوم پزشکی مازندران

* ساری- بلوار پاسداران- مرکز آموزشی درمانی بوعلی سینا

*** دستیار گروه کودکان

** دانشیار دانشگاه علوم پزشکی مازندران

مقدمه

ویروس هپاتیت B (HBV) یکی از علل عمده هپاتیت ویروسی در سطح جهان می باشد. حدس زده می شود که حدود ۲ میلیارد نفر از جمعیت دنیا در طی دوران حیات خویش، آلودگی با ویروس فوق را تجربه می کنند و حدود ۳۵۰ میلیون نفر ناقل مزمن هپاتیت B در جهان وجود دارند که حدود ۲۵ درصد از آنان سرانجام به طرف بیماری مزمن کبدی به صورت هپاتیت مزمن، سیروز یا کارسینوم کبدی پیشرفت می کنند (۱).

کسب عفونت سبب ایجاد طیف وسیعی از علایم و نشانه ها به صورت هپاتیت حاد یا بدون زردی، هپاتیت فولمینانت و یا ناقل بدون علامت مزمن می گردد که علاوه بر احتمال خطر کسب عوارض درازمدت کبدی، می توانند به عنوان منابع ویروس در آلوده سازی سایرین عمل نمایند (۲).

میزان شیوع عفونت مزمن HBV در نقاط مختلف دنیا از ۰/۵ تا ۲۵ درصد است. در کشور ما میزان شیوع بین ۱/۵ تا ۶ درصد متفاوت گزارش شده است (۳).

در حال حاضر درمان قاطعی برای عفونت حاد یا مزمن هپاتیت B وجود ندارد ولی به دلیل وجود واکسن بسیار مؤثر با توان ایمنی زایی بیش از ۸۵ تا ۹۹ درصد می توان با انجام واکسیناسیون کامل در تمام گروه های حساس خصوصاً نوزادان از میزان بروز و شیوع HBV خصوصاً درازمدت به نحو چشمگیری کاسته و یا پیشگیری نمود (۴).

از سال ۱۹۹۱ بنا به توصیه سازمان بهداشت جهانی (WHO) بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران، تزریق واکسن هپاتیت B را در برنامه روتین واکسیناسیون همگانی کشوری خویش جای دادند که با تفاوت بسیار اندک برنامه ها، به صورت تزریق عضلانی (۰/۵ میلی لیتر = ۱۰ میکروگرم) در نوزادان در بدو تولد، ۱/۵ و ۹ ماهگی انجام می شود (۵).

مشکل اصلی اجرای برنامه ایمن سازی همگانی در

اکثر نقاط دنیا به ویژه در کشورهای در حال توسعه و از جمله ایران، هزینه بالای تهیه و تدارک واکسن می باشد که مانع اصلی گسترش برنامه خصوصاً به تمام گروه های حساس و در معرض خطر می باشد. برطبق برآورد انجام شده در آمریکا قیمت هر دوز واکسن بدون محاسبه ویزیت و وسایل تزریق حدود ۲۵ دلار می باشد. از طرف دیگر، انجام واکسیناسیون در نوزادی از بار ویروس در جامعه در کوتاه و میان مدت کم نمی کند (۶). لذا برای حل مشکل فوق مطالعات متعددی در جهت کاستن از هزینه مالی واکسیناسیون بدون کاهش توان ایمنی بخشی واکسن با کاستن از دوز واکسن ولی با روش عضلانی، کاستن از دوز با روش داخل جلدی، تغییر در تعداد دفعات و فواصل تزریق در گروه های مختلف حساس و بیشتر در افراد بزرگسال با نتایج متفاوت و گاهی متضاد انجام گرفت (۸ تا ۱۶).

هدف از طرح فوق انجام واکسیناسیون با دوز کمتر از ۲ میلی گرم (۰/۱ میلی لیتر) به روش داخل جلدی در نوزادان تازه متولد شده کم خطر در بیمارستان امام خمینی ساری و مقایسه میزان پاسخ ایمنی حاصله با روش استاندارد ۱۰ میلی گرم (۰/۵ میلی لیتر) داخل عضلانی می باشد.

مواد و روش ها

مطالعه به صورت کارآزمایی بالینی در نوزادان متولد شده در بیمارستان امام خمینی ساری انجام گرفت. نوزادان انتخاب شده دارای وزن زمان تولد ۲۵۰۰ تا ۴۱۰۰ گرم و ترم و بدون عیوب خاص بوده اند. پس از توضیح کامل شیوه اجرای طرح و مسایل مربوط به آن و اخذ رضایت کتبی از والدین، ۳ میلی لیتر از خون مادر گرفته شده و همان روز به آزمایشگاه مرکزی سازمان انتقال خون مازندران جهت انجام آزمایش HBsAg منتقل می گردید و نوزدانی که مادر آنها آنتی ژن مثبت

بود (یک مورد) از مطالعه حذف، و جهت انجام پیگیری‌های معمول به کلینیک بیماری‌های عفونی معرفی می‌شدند. نوزادان به صورت اتفاقی در دو گروه شاهد و مورد انتخاب و بر علیه هپاتیت B واکسینه شدند. در گروه شاهد ۱۰ میلی گرم (۰/۵ میلی لیتر) واکسن هپاتیت B نوع ترکیبی (Heberbiovac) به طریق داخل عضلانی در محل دلتوئید و در گروه مورد ۲ میلی گرم (۰/۱ میلی لیتر) از همان واکسن به طریق داخل جلدی در ناحیه قدام ساعد تزریق گردید. در یک و نیم ماهگی (همراه با واکسیناسیون روتین کشوری) و شش ماهگی هم این تزریقات با همان دوز و روش تکرار گردید. تمامی تزریقات توسط پرسنل ورزیده مسئول واکسیناسیون (دو نفر) انجام گرفت و در تمام طول مطالعه نوزادان به طور مرتب تحت نظر گروه تحقیق بوده و ماهیانه از نظر اندکس‌های رشد و تکامل، عوارض واکسن و نوع تغذیه کنترل می‌شدند.

۴ تا ۶ هفته پس از تزریق آخرین دوز واکسن، ۲ میلی لیتر نمونه سرم نوزادان تهیه و در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید و در نهایت تیتراژ آنتی بادی ضد HBsAg با روش الیزا و به طور کمی با استفاده از کیت ساخت شرکت RADIM ایتالیا اندازه گیری شد. براساس دستورالعمل کارخانه سازنده، تیتراژ کمتر از IU/L به عنوان پاسخ منفی (Nonresponder)، مقادیر ۹-۴ IU/L به عنوان مشکوک (Hyporesponder)، و مقادیر مساوی یا بیشتر از ۱۰ IU/L به عنوان پاسخ مثبت

(Responder) نام گذاری شد. همچنین میانگین و انحراف معیار تیتراژ آنتی بادی مقایسه گردید. پرسنل آزمایشگاه به هیچ عنوان از نوع تزریق آگاهی نداشتند و به جهت کنترل پاسخ‌ها ۱۰ درصد نمونه‌ها (۶ نمونه) به صورت تکراری و با نام و نام خانوادگی غیر واقعی در بین نمونه‌ها ارسال شدند که پاسخ آزمایشگاه در تمام موارد کاملاً مشابه بوده است. در نهایت، اطلاعات دریافتی جمع آوری و مورد بررسی آماری قرار گرفت. برای مقایسه بین دو گروه از آزمون‌های t و مجذور کای استفاده شد.

یافته‌ها

از جمع ۱۱۳ نوزاد مورد بررسی، ۵۱ نوزاد جهت ادامه واکسیناسیون مراجعه مرتب داشتند و والدین مابقی نوزادان با وجود پیگیری‌های مکرر به علت مشکلات مختلف مثل مهاجرت، دوری راه و مسایل اقتصادی و فرهنگی تمایلی به ادامه همکاری نشان ندادند که از جمع اینها با هماهنگی مراکز بهداشتی و درمانی به نوزادانی از گروه مورد که از ادامه واکسیناسیون داخل جلدی محروم گردیدند، سه نوبت دیگر واکسن به طریق عضلانی و با دوز نیم سی سی تزریق گردید. ۲۳ نوزاد در گروه مورد و ۲۸ نوزاد در گروه شاهد قرار داشتند. مشخصات این گروه‌ها در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول شماره ۱: خصوصیات نوزادان گروه شاهد و مورد واکسینه شده با دوزهای معمول و ۲ میلی گرمی هپاتیت B در بیمارستان بوعلی سینا ساری در سال ۱۳۷۸

مشخصات	گروه شاهد (داخل عضلانی)	گروه مورد (داخل جلدی)	تفاوت
تعداد	۲۸	۲۳	
پسر (درصد)	۵۴	۳۹	NS*
دختر (درصد)	۴۶	۶۱	NS
وزن زمان تولد (گرم)	۳۳۵۸ ± ۲۹۲	۳۳۴۵ ± ۳۸۰	NS
Zscore وزن زمان پایان طرح	-۰/۰۶۷	-۰/۰۷۰	NS
مصرف شیر مادر (درصد)	۸۲/۱	۷۸/۲	NS

*NS = Nonsignificant

جدول شماره ۲: پاسخ ایمنی نوزادان گروه شاهد و مورد به دوزهای معمول و ۲ میلی گرمی زیر جلدی واکسن هپاتیت B در بیمارستان بوعلی سینا ساری در سال ۱۳۷۸

گروه	پاسخ	مثبت (%) ≤ ۱۰ IU/L	منفی (%) ≤ ۱۰ IU/L	Good Response ≤ ۱۰۰ IU/L	GMT
شاهد		۲۷ (۹۶/۴)	۱ (۳/۶)	۲۵ (۸۹/۳)	۶۵۸ ± ۳۷۸
مورد		۱۹ (۸۲/۶)	۴ (۱۷/۴)	۱۷ (۷۳/۹)	۴۴۷ ± ۳۶۶

همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌گردد براساس بررسی‌های آماری اختلاف معنی‌داری از نظر جنس و وزن زمان تولد و وزن پایان طرح و نیز وضعیت تغذیه‌ای بین دو گروه مشهود نبوده است.

در جدول شماره ۲ یافته‌های حاصل از بررسی سرولوژیک نوزادان مورد بررسی آمده است. در این جدول گروه Hyporesponder و Nonresponder مجموعاً در گروه با پاسخ منفی قرار گرفته‌اند.

در بعضی مطالعات پاسخ آنتی‌بادی ۱۰۰ IU/L به عنوان پاسخ خوب (Good response) تقسیم‌بندی شده است. براین اساس، در مطالعه ما ۸۹ درصد نوزادان گروه شاهد و ۷۴ درصد نوزادان گروه مورد پاسخ خوب داشته‌اند که مقایسه این نتایج هم براساس آزمون مجذورکای اختلاف معنی‌داری را به اثبات نرساند.

بحث

نتایج مطالعه نشان داد که ۸۲/۶ درصد نوزادان فول ترم سالم کم خطر، نسبت به تزریق داخل جلدی واکسن HB با دوز کم پاسخ ایمنی مناسب دارند که درمقایسه با روش مرسوم تجویز واکسن HB (دوز ۱۰ میکروگرم عضلانی)، از نظر پاسخ ایمنی، تفاوت معنی‌دار آماری نداشتند (۸۲/۶ درصد درمقابل ۹۶/۴ درصد و $P > 0/05$ ، $X^2 = 2/74$; $df = 1$). از نظر تیترا میانگین آنتی‌بادی حاصله، دو گروه با هم متفاوت بودند [روش ID و (۴۴۷ ± ۳۶۶) در مقابل روش IM و (۶۵۸ ± ۳۷۸) که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بوده است ($t = 2/014$ و $df = 49$ و $P < 0/01$). نتایج فوق حاکی از توان ایمنی‌زایی مناسب واکسن HB

با دوز کم با تزریق ID بوده است، اگر چه متوسط تیترا آنتی‌بادی حاصله کمتر می‌باشد.

برای کاستن از بار اقتصادی واکسیناسیون، مطالعات متعددی برای سنجش ایمنی‌زایی و بقاء ایمنی حاصل در گروه‌های مختلف جمعیتی خصوصاً در بالغین و کودکان بزرگتر، با کاستن از دوز و تغییر روش تزریق و گاهی تغییر در برنامه واکسیناسیون انجام شده است که نتایج متفاوت و گاه متضاد گزارش شده‌اند.

Redfield (۱۹۸۵) در مطالعه‌ای بر روی پرسنل بهداشتی، روش استاندارد ۱۰ میکروگرم و عضلانی را با روش داخل جلدی و ۲ میکروگرم در ماه‌های ۱، ۶ و ۹۶ مقایسه کرد که نسبت پاسخ در دو گروه ۱۰۰ و ۹۶ درصد بوده که از نظر آماری معنی‌دار نبوده است (۸).

King (۱۹۹۰) در مطالعه‌ای بر روی دو گروه داوطلب، روش مرسوم عضلانی ۳ دوزی و ۱۰ میکروگرم را با روش داخل جلدی ۲ میکروگرم و ۴ دوزی مقایسه نمود که پاسخ مشابه و بی‌تفاوت بوده است (۹). Struve (۱۹۹۲) روش روتین IM را با میکروگرم ۲ به طریق ID مقایسه نمود که هر دو گروه پاسخ مناسب داشتند (۱۰). در مطالعه Goldwater (۱۹۸۶) که واکسیناسیون را با دوز کم و ID در فواصل ۱، ۶ و ۲ ماهگی انجام داد، افراد کمتر از ۳۰ سال پاسخ مناسب ولی بالاتر از ۳۰ سال پاسخ نامطلوب داشتند (۱۱). در مطالعه Brink (۱۹۹۱) روی دو گروه از دانشجویان پزشکی با روش دوز کم و ID پاسخ حاصله در حد مطلوب نبوده است (۱۲). در تمام

مطالعات فوق، تیتراژ آنتی بادی در روش ID از روش IM کمتر بوده است.

Goldfarb (۱۹۹۶) در مطالعه بر روی کودکان پیش دبستانی امریکا دوز ۵ میکروگرم را با دوز استاندارد ۱۰ میکروگرم (هر دو به روش IM) مقایسه نمود. پاسخ ایمنی حاصله در هر دو گروه مشابه و از نظر آماری بی تفاوت بود (۷). در مطالعات ملک افضلی و همکاران (۱۳۷۶) در کاشان (۱۳) و Kurugol و همکاران در ازبکستان (۱۹۹۷) (۱۴) در کودکان پیش دبستانی و دبستانی با دوز روش استاندارد و دوز کم ID در فواصل ۱، ۶ و ۱۰ ماهگی، نسبت پاسخ ایمنی آنتی بادی دو گروه یکسان ولی تیتراژ متوسط آنتی بادی در گروه ID کمتر بوده است. Whittle و همکاران (۱۹۸۷) (۱۶) در گامبیا در مطالعه‌ای بر روی گروهی از نوزادان که ابتدا به تمام نوزادان ۴۰ میکروگرم واکسن هپاتیت B به عنوان دوز صفر تجویز و بعد در گروه مورد ۲ میکروگرم داخل جلدی و گروه شاهد ۱۰ میکروگرم عضلانی در ۱ و ۶ ماهگی تزریق نمودند. پاسخ ایمنی و تیتراژ آنتی بادی در گروه ID کمتر از روش عضلانی بوده و از نظر آماری تفاوت معنی داری بوده است. براساس نتایج مطالعه فوق و بررسی مطالعات سایر نقاط دنیا می‌توان بر مؤثر بودن روش داخل جلدی و دوز پایین واکسن HB در نوزادان

تأکید ولی با توجه به محدودیت‌های زیر نمی‌توان با صراحت کامل در رابطه با جایگزینی آن به جای روش استاندارد اظهار نظر نمود و توصیه می‌شود که:

۱- با توجه به اهمیت ایمن‌سازی گروه نوزادان و کم بودن حجم نمونه در مطالعه فوق و با عنایت به نتیجه این مطالعه، در صورت موافقت و همکاری وزارت بهداشت، این مطالعه در جمعیت بزرگتر در محدوده کامل یک شهر متوسط یا کوچک تکرار تا در صورت تأیید بتوان آن را همگانی نمود.

۲- با توجه به ضرورت تداوم ایمنی برای اثر موفقیت‌آمیز در کنترل HBV، لازم است گروه مورد مطالعه در فواصل یک و پنج سال بعد از نظر وجود و بقاء ایمنی تحت بررسی مجدد قرار گیرند.

سپاسگزاران

از والدین نوزادان مورد مطالعه، پرسنل محترم بخش‌های زنان و نوزادان بیمارستان امام خمینی و کودکان بوعلی سینا ساری، معاونت‌های محترم پژوهشی و بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تشکر و قدردانی می‌شود.

فهرست منابع

1. Cherry JD, Nielsen K, Vargas J. *Textbook of pediatric infectious disease*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1998: 1685-1702.
2. Zeldis JB, Cunmpacker CS. Hepatitis. In: Remington and klein (ed). *Infectious disease of the fetus and newborn infant*. 4th ed. Saunders Company, 1995: 805-834.
3. ناصر، ابراهیمی دریانی؛ همکاران. *هپاتیت ویروسی و اتوایمون*. تهران: نشر طبیب، ۱۳۷۸: ۱۶-۱۸.
4. Greenberg DP, Vadheim CM, Wong VK, et al. Comparative safety and immunogenicity of two recombinant hepatitis vac given to infant at 2,4,6 months of age. *Ped Inf D J*. 1996; 5(15): 590-596.
5. Committee on infectious disease. American Academy of Pediatrics

- Universal Hepatitis B Immunization. *Pediatrics*. 1992; 89: 795-800.
6. West DJ, Margolis HS. Prevention of hepatitis B virus infection in the United State. *Ped Inf Dis J*. 1992; 8(11): 866-877.
7. Goldfard J, Medendorp Shv, Garcia H, et al. Comparison study of the immunogenicity and safety of 5 and 19^{micgr} dosages of a recombinant Hapatitis B vaccine in healthy infants. *Ped Inf Dis J*. 1996; 7(15): 764-767.
8. Redfield RR, Innis BL, Scott RM, et al. Clinical evaluation of low dose intradermally administered hepatitis B vac, a cost reducing strategy. *JAMA*. 1985; 254(22): 3203-6.
9. King JW, Taylor EM, Crow SD, et al. Comparison of the immunogenicity of hepatitis B vaccine administered intradermally and intramuscularly. *Rev Inf Dis*. 1990; 12(6): 1035-43.
10. Strvve J, Aronsson B, Fenning B, et al. Intramuscular versus intradermally administration of a recombinant hepatitis B vaccine. *Scand J Inf Dis*. 1992; 24(4): 423-39.
11. Goldwater PN, Woodfield DG, Ramirez AM, et al. Intradermal low dose shortcourse hepatitis B vaccination. *Newz Med J*. 1986; (99): 703-705.
12. Brink NS, Murray AB. Intradermal vaccination against hepatitis B in a group of medical students. *South Afr Med J*. 1991; 79(11): 653-54.
۱۳. افضلی، ح؛ والی، غ؛ کیهانی، ع؛ ح؛ خلیفه سلطانی، الف. مقایسه تأثیر واکسن هپاتیت B به روش‌های داخل عضلانی و داخل جلدی. فیض. سال دو، شماره دوم، تابستان ۷۶: ۹-۱.
14. Kurugol Z, Egemen A, Erensoy A, et al. Intradermal administration of hepatitis B vaccine in infant and preschool child. *Turk J Ped*. 1997; 39(4): 483-489.
15. Manyike PT, Aspinall S, Summers RS. Immunogenicity of recombinant hepatitis B vac in urban child from South Africa. *Ped inf Dis J*. 1992; 7(11): 726-30.
16. Whittle HC, Lamb WH, Ryder RW. Trial of intradermal hepatitis B vac in Gambian children. *Ann Trop Ped*. 1987; 7(1): 6-9.