

سنجهش پاسخ ایمنی نوزادان به تزریق داخل جلدی با دوز پایین

واکسن هپاتیت B

محمد جعفر صفار (M.D.)^{*} مهرنوش 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 ایمن‌سازی همگانی، هزینه بالای واکسن می‌باشد. یک راه حل مناسب کاستن از دوز واکسن بدون کاستن از توان ایمنی زایی آن خواهد بود. هدف مطالعه، انجام واکسیناسیون برعلیه بیماری هپاتیت B با دوز کم و به روش داخل جلدی می‌باشد.

مواد و روش‌ها : 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 میلی‌گرم (۵/۰ میلی‌لیتر) از واکسن نوترکیبی هپاتیت B را به روش داخل عضلانی در ناحیه دلتویید و گروه مورد ۲ میلی‌گرم (۱/۰ میلی‌لیتر) از همان واکسن را به روش داخل درمی درناحیه قدام ساعد در زمان‌های بدو تولد، ۱/۵ و ۶ ماهگی دریافت کردند. پاسخ به واکسن ۴ تا ۶ هفته پس از آخرین دوز با اندازه‌گیری سطح آنتی‌بادی AntiHBs در سرم کودکان مورد مطالعه به روش الیزا و به صورت کمی انجام شد.

یافته‌ها : 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 ($\leq 10^{10} \text{ ml}$) داشتند که بر اساس آزمون کایدو تفاوت آنان معنی‌دار نبوده است، ولی تیتر متوسط آنتی‌بادی (GMT)^(۱) در گروه مورد 336 ± 447 و در گروه شاهد 378 ± 458 بوده است که از این نظر تفاوت دو گروه معنی‌دار بوده است.

استنتاج : تزریق داخل جلدی با دوز کم واکسن هپاتیت B توان ایمنی زایی قابل قبولی داشته ولی برای تعییم این روش به مطالعات تکمیلی با حجم نمونه بیشتر و نیز مطالعه سنجش بقاء ایمنی به فواصل ۱و۵ سال بعد نیاز می‌باشد.

واژه‌های کلیدی : هپاتیت B، واکسیناسیون داخل جلدی، دوز پایین داخل عضلانی

1. GMT= Geometric Mea Titer

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

✉ ساری-بلوار پاسداران-مرکز آموزشی درمانی بوعلی سینا

* دانشیار دانشگاه علوم پزشکی مازندران

** دستیار گروه کودکان

** دانشیار دانشگاه علوم پزشکی مازندران

مقدمه

اکثر نقاط دنیا به ویژه در کشورهای در حال توسعه و از جمله ایران، هزینه بالای تهیه و تدارک واکسن می‌باشد که مانع اصلی گسترش برنامه خصوصاً به تمام گروه‌های حساس و در معرض خطر می‌باشد. برطبق برآورد انجام شده در آمریکا قیمت هر دوز واکسن بدون محاسبه ویزیت و وسائل تزریق حدود ۲۵ دلار می‌باشد. از طرف دیگر، انجام واکسیناسیون در نوزادی از بار ویروس در جامعه در کوتاه و میان مدت کم نمی‌کند^(۶). لذا برای حل مشکل فوق مطالعات متعددی در جهت کاستن از هزینه مالی واکسیناسیون بدون کاهش توان اینمی 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 گروه‌های مختلف حساس و بیشتر در افراد بزرگسال با نتایج متفاوت و گاهی متضاد انجام گرفت^(۸)^(۷).

هدف از طرح فوق انجام واکسیناسیون با دوز کمتر از ۲ میلی‌گرم (۱۰ میلی‌لیتر) به روش داخل جلدی در نوزادان تازه متولد شده کم خطر در بیمارستان امام خمینی ساری و مقایسه میزان پاسخ اینمی حاصله با روش استاندارد ۱۰ میلی‌گرم (۵ میلی‌لیتر) داخل عضلانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

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 بوده‌اند. پس از توضیح کامل شیوه اجرای طرح و مسایل مربوط به آن و اخذ رضایت کتبی از والدین، ۳ میلی‌لیتر از خون مادر گرفته شده و همان روز به آزمایشگاه مرکزی سازمان انتقال خون مازندران جهت انجام آزمایش HBsAg منتقل می‌گردید و نوزادانی که مادر آنها آنتی‌ژن مثبت

ویروس هپاتیت B (HBV) یکی از عمل عمده هپاتیت ویروسی در سطح جهان می‌باشد. حدس زده می‌شود که حدود ۲ میلیارد نفر از جمعیت دنیا در طی دوران حیات خویش، آلودگی با ویروس فوق را تجربه می‌کنند 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 می‌کنند^(۱). کسب عفونت سبب ایجاد طیف وسیعی از علائم و نشانه‌ها به صورت هپاتیت حاد با یا بدون زردی، هپاتیت فولمینانت و یا ناقل بدون علامت مزمن می‌گردد که علاوه بر احتمال خطر کسب عوارض درازمدت کبدی، می‌توانند به عنوان منابع ویروس در آلوده‌سازی 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 اینمی‌زایی بیش از ۸۵ تا ۹۹ درصد می‌توان با انجام واکسیناسیون کامل در تمام گروه‌های 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 روتنین واکسیناسیون همگانی کشوری خویش جای دادند که با تفاوت بسیار اندک برنامه‌ها، به صورت تزریق عضلانی (۰/۵ میلی‌لیتر = ۱۰ میکروگرم) در نوزادان در بدو تولد، ۱/۵ و ۹ ماهگی انجام می‌شود^(۵). مشکل اصلی اجرای برنامه ایمن‌سازی همگانی در

(Responder) نام‌گذاری شد. همچنین میانگین و انحراف معیار تیتر آنتی‌بادی 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. درنهایت، اطلاعات دریافتی جمع‌آوری و مورد بررسی آماری قرار گرفت. برای مقایسه بین دو گروه از آزمون‌های آ و مجدور کای استفاده شد.

یافته‌ها

از جم 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 مراکر 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 میلی‌گرمی هپاتیت B در بیمارستان بوعلی سینا ساری در سال ۱۳۷۸

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

*NS = Nonsignificant

بود (یک مورد) از مطالعه حذف، وجهت 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 میلی‌گرم (۰/۵ میلی‌لیتر) واکسن هپاتیت B نوع ترکیبی (Heberbiovac) به طریق داخل عضلانی در محل دلتویید و در گروه مورد ۲ میلی‌گرم (۱/۰ میلی لیتر) از همان واکسن به طریق داخل جلدی در ناحیه قدام ساعد تزریق گردید. در یک و نیم ماهگی (همراه با واکسیناسیون روئین کشوری) و ششم‌ماهگی هم این تزریقات با همان دوز و روش تکرار گردید. تمامی تزریقات توسط پرسنل ورزیده مسؤول واکسیناسیون (دو نفر) انجام گرفت و در تمام طول مطالعه نوزادان به طور مرتبا 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 میلی‌لیتر نمونه سرم نوزادان تهیه و در -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید و درنهایت تیتر آنتی‌بادی ضد HBsAg با روش الیزا و به طور کمی با استفاده از کیت ساخت شرکت RADIM ایتالیا اندازه گیری شد. براساس دستورالعمل کارخانه سازنده، تیتر کمتر از IU/L به عنوان پاسخ منفی (Nonresponder)، مقداری IU/L ۴-۹ به عنوان مشکوک (Hypo responder)، و مقدار مساوی یا بیشتر از ۱۰ IU/L به عنوان پاسخ مثبت

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

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
سالی در سال ۱۳۷۸

GMT	Good Response $\leq 100 \text{ IU/L}$	منفی (%) $\leq 10 \text{ IU/L}$	مثبت (%) $\geq 10 \text{ IU/L}$	پاسخ	
				گروه	شاهد
658 ± 378	۲۵(۸۹/۳)	۱(۳/۶)	۲۷(۹۶/۴)		
447 ± 366	۱۷(۷۳/۹)	۴(۱۷/۴)	۱۹(۸۲/۶)	مورد	

با دوز کم با تزریق ID بوده است، اگر چه متوسط تیتر آنتی بادی حاصله کمتر می‌باشد.
برای کاستن از بار اقتصادی واکسیناسیون، مطالعات متعددی برای سنچش ایمنی زایی 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 گاهاً متضاد گزارش شده‌اند.

Redfield (۱۹۸۵) در مطالعه‌ای بر روی پرسنل بهداشتی، روش استاندارد ۱۰ میکرو گرم و عضلانی را با روش داخل جلدی و ۲ میکرو گرم در ماههای ۱، ۰ و ۶ مقایسه کرد که نسبت پاسخ در دو گروه ۱۰۰ و ۹۶ درصد بود که از نظر آماری معنی دار نبوده است (۸). King (۱۹۹۰) در مطالعه‌ای بر روی دو گروه داوطلب، روش مرسوم عضلانی ۳ دوزی و ۱۰ میکرو گرم را با روش داخل جلدی ۲ میکرو گرم و ۴ دوزی مقایسه نمود که پاسخ مشابه و بی تفاوت بوده است (۹). Struve (۱۹۹۲) روش روتین IM را با میکرو گرم 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 ۱۰ 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) روش ID و ۲ میکرو گرمی از دانشجویان پزشکی با روش دوز کم و ID پاسخ حاصله در حد مطلوب نبوده است (۱۲). در تمام

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 Nonresponder و Hyporesponder مجموعاً در گروه با پاسخ منفی قرار گرفته‌اند.

در بعضی مطالعات پاسخ آنتی بادی 100 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 مجدد کاری 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 در مقایسه با روش مرسوم تجویز واکسن HB (دوز ۱۰ میکرو گرم عضلانی)، از نظر پاسخ ایمنی، تفاوت معنی دار آماری نداشتند (۸۲/۶ درصد در مقابل ۹۶/۴ درصد و $P > 0.05$ ، $\chi^2 = 2.74$; $df = 1$). از نظر تیتر میانگین آنتی بادی حاصله، دو گروه با هم متفاوت بودند [روش ID و (۴۴۷ ± ۳۶۶) در مقابل روش IM و (658 ± 378)] که این تفاوت از نظر آماری معنی دار بوده است ($t = 2.014$ و $df = 49$ و $P < 0.01$). نتایج فوق حاکی از توان ایمنی زایی مناسب واکسن HB

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

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 موققیت‌آمیز 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.

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

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, Cunnpacker CS. Hepatitis. In: Remington and klein (ed). *Infectious disease of the fetus and newborn infant*. 4th ed. Saunders Company, 1995: 805-834.

Goldfard 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 بی‌تفاوت بود(۷). در مطالعات ملک افضلی و همکاران (۱۳۷۶) در کاشان(۱۳) و Kurugol و همکاران در ازمیر ترکیه (۱۹۹۷)(۱۴) در کودکان پیش دبستانی و دبستانی با دو روش استاندارد و دوز کم ID در فواصل ۱۰ و ۶ ماهگی، نسبت پاسخ ایمنی آنتی بادی دو گروه یکسان ولی تیتر متوسط آنتی بادی در گروه ID کمتر بوده است. Whittle و همکاران (۱۹۸۷) 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 ۱۰ و ۶ ماهگی تزریق نمودند. پاسخ ایمنی و تیتر 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

فهرست منابع

۳. ناصر، ابراهیمی دریانی؛ همکاران. هپاتیت ویروسی و اتوایمون. تهران: نشر طیب، 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. Goldfarb J, Medendorp Shv, Garcia H, et al. Comparison study of the immunogenicity and safety of 5 and 19^{micr} 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. Struve 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؛ 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.