



واکسیناسیون با دوز اثر اضافی واکسن هپاتیت B در کودکان بدون آنتی بادی حفاظت بخش، ده سال پس از سری کامل واکسیناسیون، ساری- ایران ۸۴-۱۳۸۳!!

گلناز گری نورانی (M.D.)**

محمدجعفر صفار (M.D.)*

هانا صفار (M.D.)**

علیرضا خلیلیان (Ph.D.)***

چکیده

سابقه و هدف: هدف این مطالعه، تعیین وضعیت واقعی پاسخدهی به واکسن هپاتیت B در تعدادی از کودکان ۱۱/۵ ساله ساروی می باشد که ده سال پس از واکسینه شدن بر علیه عفونت هپاتیت B، ایمنی سرمی نداشته و با دریافت نوبت یادآور واکسن نیز ایمنی مناسب نشان نداده بودند.

مواد و روش ها: طی یک مطالعه از میان کودکانی که ده سال قبل، سری کامل واکسن هپاتیت B را در دوران نوزادی دریافت کرده بودند، کودکان حساس به عفونت (عیار آنتی بادی کمتر از عیار محافظت کننده) جدا شدند. ابتدا برای همه کودکان حساس فوق، یک نوبت واکسن یادآور تجویز گردید. کودکانی که پس از این مرحله نیز حساس مانده بودند، وارد مطالعه شدند. به کودکان فوق ۳ نوبت اضافی از واکسن هپاتیت B به فاصله ۴-۶ هفته از همدیگر تزریق گردید. قبل از تجویز هر نوبت و ۴-۶ هفته پس از دریافت آخرین نوبت واکسن اضافی، نمونه سرمی برای بررسی پاسخ ایمنی با روش ELISA تهیه گردید.

یافته ها: همه کودکان پس از دریافت اولین نوبت اضافی واکسن، پاسخ تشدید یافته ای نشان داده اند. (عیار قبل از دریافت نوبت اضافی اول $3/8 \pm 3/39$ ، پس از نوبت اول $140/89 \pm 27/84$ ، $P=0/000$) تفاوت معنی داری بین میانگین عیار آنتی بادی سرمی پس از دریافت نوبت اول با نوبت دوم و یا سوم وجود نداشت.

استنتاج: نتایج مطالعه نشان داد که در کودکان فوق، خاطره ایمنی بر علیه هپاتیت B وجود داشته و عدم پاسخ دهی آنان به واکسن نوبت یادآور قبلی، نشانه عدم وجود خاطره ایمنی نبوده است.

واژه های کلیدی: واکسن هپاتیت B، خاطره ایمنی، نوبت اضافی

مازندران و مرکز تحقیقات تالاسمی دانشگاه

// :

// :

مقدمه

عفونت با ویروس هپاتیت B (Hepatitis B virus-“HBV”) یکی از مشکلات مهم بهداشتی در جهان می‌باشد. حدود ۳۵۰ میلیون نفر در سطح جهان، آلودگی مزمن به ویروس فوق دارند که قریب یک چهارم آنان در معرض خطر کسب عوارض ناشی از آن منجمله: نارسایی کبدی، سیروز و کارسینوم اولیه کبد می‌باشند (۱،۲).

عفونت HBV از طریق ایمن‌سازی فعال با واکسن هپاتیت B قابل پیشگیری است. نتایج مطالعات متعدد حاکی است که ۹۵-۸۰ درصد افراد واکسینه شده با تولید آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن S ویروس HBV (anti-HBs antibody) در برابر کسب عفونت فوق “حتی با کاهش عیار آنتی‌بادی تولیدی به غلظت کم‌تر از عیار حفاظت‌کننده” برای بیش از ۱۵-۱۰ سال ایمن می‌گردند (۳-۵). با شروع ایمن‌سازی فعال بر علیه HBV، پدیده عدم پیدایش ایمنی مناسب در گروهی از گیرندگان واکسن، به‌عنوان یک مشکل مطرح گردید. مواردی از بروز عفونت هپاتیت B در کسانی که پس از دریافت سری کامل واکسن، به آن پاسخ مناسب ایمنی بخش نداده باشند، گزارش شده است (۶). بر این اساس برای ایجاد ایمنی مناسب در گروه‌های فوق خصوصاً آنان که در معرض خطر مواجهات مکرر با عفونت HBV قرار دارند، راه‌کارهای مختلفی پیشنهاد و مورد مطالعه قرار گرفتند (۷-۱۳) منجمله: افزایش غلظت واکسن تجویزی (۹)، تعویض نوع واکسن (۱۰)، تغییر روش تزریق از عضلانی به داخل جلدی (۱۱)، و به کارگیری سیتوکاین‌های مختلف به‌عنوان مواد کمکی (adjuvant) (۱۲-۱۴) از اهم آنان بوده که در گروه‌های مختلف جمعیتی مورد مطالعه قرار گرفته ولی نتایج یکسانی نداشته‌اند. هدف مطالعه حاضر، سنجش پاسخ ایمنی بدن

به نوبت اضافی واکسن HBV در گروهی از کودکان بدون غلظت آنتی‌بادی حفاظت بخش، ده سال پس از انجام واکسیناسیون کامل سری اول واکسن HBV در دوران نوزادی بوده که به تجویز نوبت یادآور واکسن و پاسخ ایمنی بخش نداده بودند، می‌باشد..

مواد و روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه شامل ۲۰ نفر از کودکان ۱۱/۵ ساله ساروی می‌باشد که از میان ۴۳۵ نفر از جمعیت کودکان ساروی مطالعه قبلی (۱۵) انتخاب شده‌اند. [خلاصه مطالعه قبلی چنین بوده که ۴۳۵ نفر از کودکان ۱۱ ساله مقیم شهرستان ساری، ده سال پس از تکمیل شدن سری اول واکسیناسیون همگانی هپاتیت B در دوران نوزادی مورد سنجش عیار آنتی‌بادی anti-HBs قرار گرفتند. کودکان حساس به عفونت HBV (عیار آنتی‌بادی کمتر از ۱۰ واحد در لیتر) جدا و در سه گروه مشابه تحت تزریق نوبت یادآور (Booster) واکسن نوترکیبی هپاتیت B (Hebivax, Havana-Cuba) در غلظت‌های مختلف آنتی‌ژنی (۲ میکروگرم در میلی‌لیتر به صورت تزریق داخل پوستی، ۵ و ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به صورت تزریق داخل عضله ناحیه دلتوئید) قرار گرفته بودند. چهار هفته پس از دریافت نوبت یادآور فوق، مجدداً مورد سنجش عیار آنتی‌بادی قرار گرفتند. کودکانی که عیار کم‌تر از ۱۰ واحد در لیتر داشته‌اند، جدا و از نظر نشانگرهای عفونت HBV (anti-HBc, HBs-Ag) مورد بررسی قرار گرفته‌اند و در صورت منفی بودن نشانگرهای فوق، پس از کسب رضایت والدین برای دریافت نوبت اضافی واکسن هپاتیت B، وارد مطالعه شده‌اند. به هر کودک، ۳ نوبت اضافی واکسن هپاتیت B (همان واکسن قبلی) بر اساس



تعداد نوبت واکسیناسیون مرسوم با غلظت ۲۰ µg ولی هر کدام به فاصله ۴-۵ هفته در ناحیه دلتوئید تزریق گردید. قبل از تجویز واکسن و ۴-۵ هفته پس از دریافت هر نوبت واکسن اضافی، ۳ سی سی خون وریدی از هر کودک اخذ و پس از جداسازی سرم، در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از تهیه کل نمونه‌ها، عیار آنتی‌بادی anti-HBs با استفاده از کیت $\frac{HBs - Ab\ EIA - 96}{Panamaex - labo - Diagnostic}$ و با روش کمی ELISA موری سنجش قرار گرفت. برای صرفه جویی در هزینه، عیار واقعی آنتی‌بادی در غلظت < 160 واحد در لیتر تعیین نگردید. میانگین عیار آنتی‌بادی کسب شده در هر مرحله با مراحل قبلی و بعدی مورد مقایسه آماری با روش ضریب مربعات قرار گرفت. P کم‌تر از ۵ صدم معنی‌دار تلقی گردید.

واحد در لیتر کسب کردند. عیار آنتی‌بادی تولیدی در ۴۵ درصد کودکان بیش‌تر از بالاترین رقم عیار قابل اندازه‌گیری (< 160 واحد در لیتر) بوده است. این نسبت پس از دریافت نوبت دوم و سوم به $82/3$ درصد و ۱۰۰ درصد رسید. بین میانگین عیار آنتی‌بادی (anti-HBs) در قبل از دریافت اولین نوبت اضافی واکسن HBV ($3/39 \pm 3/84$ واحد در لیتر) و میانگین غلظت آنتی‌بادی کسب شده پس از دریافت اولین نوبت اضافی ($140/89 \pm 27/84$ واحد در لیتر) تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P=0/000$). ولی تفاوت معنی‌داری بین میانگین عیار آنتی‌بادی حاصل از نوبت اول یا نوبت دوم و یا سوم وجود نداشت ($P=Non\ Significant$ و $t=1/32$). خلاصه نتایج در جدول شماره ۱ آورده شده است.

بحث

بر اساس نتیجه مطالعه حاضر، تجویز نوبت اضافی از واکسن هپاتیت B به کودکان حساس سرولوژیکی به عفونت HBV (عیار آنتی‌بادی کم‌تر از ۱۰ واحد در لیتر) سبب پیدایش پاسخ ایمنی تشدید یافته "anamnestic"

یافته‌ها

جمعا ۲۰ کودک وارد مطالعه شدند (۱۴ پسر، با میانگین سنی ۱۱/۵ سال). همه کودکان پس از دریافت اولین نوبت اضافی واکسن، عیار آنتی‌بادی بیش‌تر از ۱۰

جدول شماره ۱: رابطه آنتی‌بادی کسب شده با دفعات دریافت واکسن اضافی در کودکان حساس به عفونت HBV، ده سال پس از

واکسیناسیون نوزادی ساری ۱۳۸۳*

تعداد افراد دریافت‌کننده نوبت اضافی				عیار آنتی‌بادی واحد/لیتر
نوبت ۳	نوبت ۲	نوبت ۱	قبل از واکسن	
-	-	-	۲۰	$10 >$
۰	۰	۰	۰	۱۰-۴۹
۰	۱	۸	۰	۵۰-۹۹
۰	۲	۳	۰	۱۰۰-۱۵۹
۱۷	۱۴	۹	۰	> 165
$160 <$	$152/05 \pm 22/7$	$140/89 \pm 27/84$	$3/84 \pm 3/39$	میانگین عیار آنتی‌بادی
$P=NS \quad t=1/32$		$P=0/000$		P

*۳ نفر در مرحله ۳ و ۲ نوبت اضافی از مطالعه خارج شدند.

شکر گزار و همکاران (۲۰۰۱) بر روی کودکان و بالغین ایرانی به طور جداگانه انجام شد، پاسخ ایمنی مناسب در ۹۰ درصد کودکان اتفاق افتاد ولی فقط ۱۶/۶ درصد بالغین به نوبت اضافی تا ۶ نوبت پاسخ داده و ایمنی کسب کرده بودند (۸). کلدواتر و همکاران (۱۹۹۷) با افزایش غلظت آنتی ژنی واکسن، از ۲۰ میکروگرم به ۴۰ میکروگرم تفاوتی را پیدا نکرد (۹) ولی در مطالعه فابریزی^۳ و همکاران (۱۹۹۷)، با تغییر در روش تجویز واکسن از عضلانی به داخل جلدی در ۴۰ درصد روش عضلانی در مقایسه با ۹۶ درصد روش داخل جلدی، افراد بدون پاسخ ایمنی به سری کامل واکسیناسیون هیپاتیت B پاسخ ایمنی مازاد کسب کرده اند (۱۱). کارلسون^۴ و همکاران (۱۹۹۸) با استفاده از سیتوکاین به عنوان مواد کمکی (adjuvant)، پاسخ دهی بهتری را در افراد بدون واکنش به سری کامل واکسن هیپاتیت B ایجاد کرده اند (۲).

برای شناخت جمعیت مبتلا به نارسایی اولیه واکسن و در نتیجه تلاش در جهت ایجاد ایمنی در آنان، سنجش سرولوژیکی آنتی بادی anti-HBs چند هفته تا چند ماه پس از تکمیل شدن سری واکسیناسیون ضروری می باشد. در موارد نارسایی ثانویه واکسن، شخص واکسینه شده با تولید آنتی بادی، ایمنی مناسب کسب می کند ولی از عیار آنتی بادی مکسبه در گذر زمان کاسته شده و حتی به رقم غیر قابل اندازه گیری کاهش می یابد. وجود خاطره ایمنی لنفوسیتی B وابسته به سلول T در این افراد، سبب پیدایش پاسخ ایمنی تشدید یافته در صورت مواجهه آنان با آنتی ژن مربوط می گردد (۲۲-۲۱ و ۱۵).

به دلیل عدم سنجش پاسخ ایمنی anti-HBs پس از تکمیل شدن واکسیناسیون هیپاتیت B در کودکان مورد مطالعه حاضر و مطالعه قبلی (۱۵) نمی توان به طور دقیق

در همه آنان گردید. بین میانگین عیار آنتی بادی در قبل و پس از دریافت اولین نوبت اضافی واکسن، تفاوت معنی داری دیده شد ($P=0/000$). ولی تفاوت معنی داری بین میانگین عیار آنتی بادی حاصل از دریافت نوبت اضافی اول با نوبت اضافی دوم و یا سوم وجود نداشت.

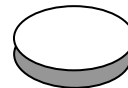
پس از دریافت سری کامل واکسن هیپاتیت B، دو دلیل اساسی برای عدم پیدایش ایمنی مطرح می باشد: نارسایی اولیه واکسن و نارسایی ثانویه (۱۶). علاوه بر عوامل محیطی، زمینه ژنتیکی افراد خصوصاً ژن های وابسته به سیستم (Major Histocompatibility Antigens) HLA در ایجاد چگونگی پاسخ ایمنی بدن به دریافت واکسن و تداوم بخشی ایمنی حاصل، نقش قابل توجهی دارند (۱۷ و ۱۸). نتایج مطالعات مختلف حاکی از فراوانی بیش تر بعضی از بازوهای سیستم "HLA Alleles" در افرادی است که پس از دریافت سری کامل واکسن، پاسخ ایمنی مناسب نداشته اند. مکانیسم های متعددی را در عدم پاسخ دهی مناسب فوق دخیل می دانند. کاهش و یا نقص عرضه آنتی ژن توسط سلول های عرضه کننده آنتی ژن به سلول T_4 (T helper cells)، کاهش تعداد سلول های T_4 و افزایش سلول های T_8 ، کاهش تولید سیتوکاین ها توسط سلول T_4 ، و عدم کفایت پاسخ دهی سلول های لنفوسیتی B به تحریک ناشی از سلول T_4 ، از اهم آنان می باشند (۱۹-۱۷). علاوه بر اصلاح عوامل محیطی، راه کارهای مختلفی برای افزایش و بهبود موارد پاسخ دهی در افراد فوق بکار گرفته شده که نتایج یکسانی نداشته اند. کلمنس و همکاران (۱۹۹۷) با افزایش دفعات تجویز واکسن در بالغینی که به سری کامل واکسن هیپاتیت B پاسخ ایمنی بخش نداده بودند با تجویز ۳ نوبت اضافی واکسن، سبب ایجاد ایمنی مناسب در همه آنان شده اند (۷). مشابه مطالعه فوق توسط

2. Goldwater

3. Fabrizio

4. Carlson

1. Clemens



کودکان مطالعه حاضر دارای ساختار ژنتیکی متفاوت از کودکان دیگری که به دریافت نوبت یادآور پاسخ داده و یا آنان که علی‌رغم گذشت ده سال از دریافت واکسن هنوز ایمنی مناسب داشتند، بوده و برای ایجاد پاسخ مناسب و تحریک خاطره ایمنی به غلظت آنتی ژنی بیش‌تر و یا مواجهه طولانی‌تری نیاز داشته‌اند.

نتایج مطالعه حاضر در راستای نتایج مطالعات قبلی (۱۵) و دیگر مطالعات موجود بوده که پس از یک دوره کامل واکسیناسیون HBV در دوران نوزادی، با ایجاد خاطره ایمنی مناسب برای بیش از ۱۵-۱۰ سال، به نظر می‌رسد نیازی به واکسیناسیون یادآور آنان حتی در عیار آنتی‌بادی کم نمی‌باشد. در این رابطه، انجام مطالعات طولانی مدت تر توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

این طرح با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به انجام رسیده که صمیمانه سپاسگزاری می‌شود. همچنین از کودکان و خانواده‌هایی که در اجرای طرح، صمیمانه همکاری داشتند، تشکر می‌شود.

نسبت موارد نارسایی اولیه واکسن را در کودکان فوق تعیین نمود. به هر حال پاسخ تشدید یافته در ۸۷/۳ درصد کودکان با عیار آنتی‌بادی کم‌تر از ۱۰ واحد در لیتر به غلظت متفاوت آنتی ژن واکسن یادآور (۲ و ۵ و ۱۰ میکروگرم) در مطالعه قبلی (۱۵) حاکی از نارسایی ثانویه واکسن در آنان بوده است. علی‌رغم عدم پاسخ دهی مناسب ۲۰ کودک فوق به دریافت واکسن هپاتیت B یادآور در آن مطالعه (۱۵)، همه آنان پس از دریافت اولین نوبت اضافی واکسن HBV پاسخ تشدید یافته داشته‌اند؛ به‌طوری که با افزایش تجویز واکسن اضافی، تفاوت معنی‌داری در میانگین عیار آنتی‌بادی حاصله در دفعات مختلف دریافت واکسن پدید نیامده بود. لذا به نظر می‌رسد که این گروه از کودکان نیز دارای نارسایی ثانویه واکسن بوده و احتمالاً "برای دادن پاسخ مناسب به آنتی ژن، نیازمند غلظت بالاتر و یا مواجهه طولانی‌تر با آنتی ژن برای تحریک خاطره ایمنی بوده‌اند.

متأسفانه اگرچه امکان ارزیابی ساختار ژنتیکی کودکان مطالعه حاضر و قبلی (۱۵) و مقایسه آنان با همدیگر برای تشخیص تفاوت احتمالی و نقش این تفاوت در تعیین چگونگی پاسخ دهی به نوبت‌های متفاوت واکسن وجود نداشته و ندارد، امکان دارد که

فهرست منابع

1. Grob P, Hallaver J, Kane M, Mc Cloy E, Meheus A, Rorre C, et al. Hepatitis B: a serious public health threat. *Vaccine* 1998; 16(sup): 1-2.
2. Zuckerman J N, Zuckerman A J. Is there a need for booster of hepatitis B vaccine. *Viral Hepatitis* 1998; 4: 43-46.
3. Goldfarb J, Medendorp SV, Garcia H, Nagamor K, Rathfon H, Krause D. Comparison study of the immunogenicity and safety of 5-and 10 μ g dosages of a recombinant hepatitis B vaccine in healthy infants. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15:764-7.
4. Roome AJ, Walsh SJ, Cantter ML, Hadler JL. Hepatitis B vaccine responsiveness in Connecticut public safety individuals. *Am J Med* 1993; 95: 584-7.

5. Trivello R, Chiaramonte M, Ngatchu T, Baldo V, Majori S, Moschen ME, et al. Persistence of anti-HBs antibodies in health care personnel vaccinated with plasma-derived Hepatitis B vaccine and response to recombinant DNA HB booster vaccine. *Vaccine* 1995; 13: 138-41.
6. Bortolotti F, Crivellaro C, Pornaro E, Raddi G. Hepatitis B in a non-responder to hepatitis B vaccine. *Infection* 1988; 16: 119-20.
7. Clemens R, Sanger R, Kruppenbacher J, Hobel W, Stanbury W, Bock HL, Jilg W. Booster immunization of low-and non-responders after a standard three dose hepatitis vaccine schedule: results of a post-marketing surveillance. *Vaccine* 1997; 15(4): 349-52.
8. Shokrgozar MA, Shokri F. Antibody response to recombinant hepatitis B surface antigen in healthy adults following primary and supplementary vaccination. *Iran J Med Science* 2001; 26(1,2): 10-15.
9. Goldwater PN. Randomized, comparative trial of 20 vs 40 µg Engerix B vaccine in hepatitis B vaccine nonresponders. *Vaccine* 1997; 15: 353-356.
10. Bertino JS Jr, Tirrell P, Greenberg RN, Keyserling HL, Poland GA. A comparative trial of standard or high dose 5 subunit hepatitis B subunit, pres1, and pres2 particles for revaccination of healthy adults nonresponders. *J Infect Dis* 1997; 175: 678-81.
11. Fabrizi F, Andrulli S, Bacchini G, Conti M, Locatelli F. Intradermal versus intramuscular hepatitis B revaccination in non responsive chronic dialysis patients: a prospective reandomized study with cost-effective evaluation. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(6): 1204-11.
12. Kin R, Tarr PE, Jones TC. Present status of the use of cytokines as adjuvants with vaccines to protect against infectious diseases. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 1439-49.
13. Goldwater PN. Randomized comparative trial of interferon-α versus placebo in hepatitis B vaccine non-responders and hyporesponders. *Vaccine* 1994; 12(5): 410-14.
14. Kim M-J, Nafziger AN, Harro CD, Keyserling HL, Ramsey KM, Drusano GL, Bertino JS, Jr. Revaccination of healthy nonresponders with hepatitis B vaccine and *prediction of seroprotection response*. *Vaccine* 2003; 21(11-12): 1174-1179.
15. Saffar MJ, Rezai MS. Long-term antibody response and immunologic memory in children immunized with hepatitis B vaccine at birth. *Indian Pediatrics* 2004; 41(17): 1232-38.
16. Mahoney F J, Kane M. Hepatitis B vaccine. In: Plotkin SA, Orenstein W, eds. *Textbook of vaccine* 3rd ed. Philadelphia: Saunders. 1999: 63-75.



17. McDermott AB, Madrigal JA, Sabin CA, Zukerman IN, Cohen SB. The influence of host factors and immunogenetics on lymphocyte responses to Hepagene vaccination. *Vaccine* 1999; 17(11-12): 1329-37.
18. McCombs CC, Leggett A, Ramsey KM. The association of HLA Class II alleles defined by restriction fragment length polymorphisms with responsiveness to hepatitis B vaccine. *Vaccine Res* 1993; 2:105-109.
19. Yamashiki M, Kosaka Y, Kondo I, Nomoto M. Impaired cytokine production by peripheral T lymphocytes in low responders to hepatitis B vaccination. *Clin Sci(lond)* 1997; 92(5):527-8.
20. Carlsson T, Sturve J. Granulocyte-macrophage stimulating factors given as an adjuvant to persons not responding to hepatitis B vaccine. *Infection* 1997; 25(2): 129.
21. Williams IT, Goldstein ST, Tufa J, Tavilli S, Mangolis HS, Mahoney FJ. Long-term antibody response to hepatitis B vaccination beginning at birth and to subsequent booster vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 157-163.
22. Plotkin SA. Immunologic correlates of protection induced by vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 63-75.