

## مقایسه پاسخ آنتی بادی آنتی ژن سطحی هپاتیت B در نوزادان نارس و رسیده پس از واکسیناسیون با واکسن هپاتیت B در مرکز آموزشی درمانی کودکان و الزهرا

دکتر ماندانا رفیعی: دانشیار بیماریهای گوارش کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

E-mail: mrafeey@yahoo.com

دکتر جعفر مجیدی: دانشیار ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز  
دکتر فاضله هاشمی: استادیار بیماریهای نوزادان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز  
دکتر صدیقه حسین پور سخا: استادیار کودکان دانشگاه علوم پزشکی تبریز  
دکتر نیره نجاتی: استادیار کودکان دانشگاه علوم پزشکی تبریز  
دکتر منیژه مصطفی قره باغی: استادیار کودکان دانشگاه علوم پزشکی تبریز  
دکتر بهزاد جدیری: متخصص کودکان

حسین کوشاور: مربی گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز

دریافت: ۸۴/۱۱/۸، پذیرش: ۸۵/۳/۱

### چکیده

**زمینه و اهداف:** ویروس هپاتیت B عامل اصلی هپاتیت مزمن و سیروز و سرطان سلولهای کبدی در ایران است. ۳٪ افراد جامعه در ایران ناقل ویروس هپاتیت B هستند. ۴۰٪ افراد سابقه تماس با ویروس را داشته که ۳٪ آنها دچار هپاتیت مزمن خواهند شد. راه عمده انتقال از طریق خون و مشتقات آن از مادر به کودک و تماس جنسی است. هدف از این مطالعه بررسی کارآرایی واکسن هپاتیت B در نوزادان نارس و ایجاد تیتراژ مناسب آنتی بادی در این کودکان می باشد.

**مواد و روش ها:** ۸۰ نوزاد فول ترم و ۷۰ نوزاد پره ترم که در هفته اول تولد بر علیه هپاتیت B واکسینه شده و مادران آنها همگی از نظر HBS Ag منفی بوده و در روزهای اول تولد واکسینه شده اند، مورد بررسی قرار گرفتند. واکسن از نوع نوترکیبی (Herberbiovac) ساخت کوبا بود. در یکسالگی پس از پایان سه دوز روتین واکسیناسیون عیار آنتی بادی با روش Eliza تعیین و سپس از نظر آماری مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** ۹۸٪ نوزادان فول ترم و ۹۷٪ نوزادان پره ترم واکسینه شده سرو کانونرشن مناسب داشتند. مقدار متوسط تیتراژ آنتی بادی کودکان نارس پس از واکسیناسیون  $244/2 \pm 217/6$  mIU/mL و کودکان ترم  $207/1 \pm 235/8$  mIU/mL و تفاوت معنی داری در این دو گروه وجود نداشت.

**نتیجه گیری:** مطالعه ما نشان داد که می توان با اطمینان واکسن هپاتیت B را در کودکان نارس تزریق کرد و نیازی به دوز اضافه یا تاخیر در انجام واکسیناسیون وجود ندارد. پیشنهاد می شود قبل از ورود به مدرسه مجدداً تیتراژ آنتی بادی کنترل شده و در صورت نیاز واکسیناسیون تکرار شود.

**کلید واژه ها:** واکسن هپاتیت B، نوزاد نارس، آنتی بادی

### مقدمه

۱/۶٪ زنان مبتلا هپاتیت B هستند (۵) همچنین مشخص شده که در بیش از ۴۰٪ افراد جامعه سابقه تماس با ویروس وجود داشته و ۳٪ آنها دچار هپاتیت مزمن می شوند (۵)، طبق مطالعات انجام شده ۸۴٪ از بیماران مبتلا به سیروز و ۷۲٪ مبتلایان به سرطان سلول های کبدی سابقه عفونت با ویروس هپاتیت B را دارند (۲-۵). عمده ترین روش انتقال ویروس از طریق خون و مشتقات آن است. در کشورهایی که هپاتیت B شیوع بالا ئی دارد مهمترین طریقه انتقال از مادر به کودک عمودی (Vertical) می باشد که به دنبال آن انتشار بین افراد خانواده نیز می تواند اتفاق افتد ولی در کشورهای غربی انتقال جنسی از اهمیت بیشتری برخوردار است (۲، ۴).

عفونت با ویروس هپاتیت B یکی از مسائل مهم بهداشتی است، بطوریکه تقریباً ۵٪ جمعیت دنیا حاملین مزمن ویروس هپاتیت B (HBV) می باشند. از سال ۱۹۸۲ معلوم شده که با واکسیناسیون هپاتیت B می توان در بیش از ۱/۳ موارد از عفونت مزمن و عوارض دیگر هپاتیت B پیش گیری نمود (۱).

در دنیابیش از ۳۵۰ میلیون نفر ناقل ویروس هپاتیت B هستند، اکثریت این افراد در کشورهای حوزه آسیای جنوب شرقی پراکنده اند (۲-۵). این ویروس عامل اصلی هپاتیت مزمن و سیروز در کشور ایران نیز محسوب می شود، به نظرمی رسد در ایران نیز حدود ۳٪ افراد جامعه ناقل ویروس هپاتیت B می باشند (۵ و ۶). مطالعات انجام شده در تهران نشان می دهد که ۳/۶٪ مردان و

ها به دلایل متعدد تعداد نمونه ها در هر گروه حداقل ۷۰ مورد در نظر گرفته شد.

تعداد نوزادانی که در پایان بررسی مورد مطالعه قرار گرفتند، ۷۰ نوزاد نارس و ۸۰ نوزاد ترم بود. سن داخل رحمی نوزادان علاوه بر تاریخچه گرفته شده از مادر و سونوگرافی های پره ناتال ثبت شده بر اساس طبقه بندی کتاب نلسون جدول Dubowitz انجام شد (۲). نوزادان متولد شده مورد بررسی با واکسن نوترکیبی (Herberbiovac Hb) ساخت کوبا واکسینه شدند. و با استفاده از روش الیزا (Eliza) تیتراژ آنتی بادی ضد ویروس در یک سالگی تعیین گردید. آنتی بادی پلی کلونال تولید شده در بدن توسط کلون خاص تحریک شده بر علیه واکسن هپاتیت B با تیتراژ بیشتر از ۱۰ mIU/mL مثبت و کمتر از آن منفی در نظر گرفته شد. در نوزادانی که دچار مشکلات زیر بودند از مطالعه حذف گردیدند.

- ۱- ابتلا مادر به هپاتیت B
- ۲- وجود خونریزی مغزی و خونریزی ریه
- ۳- وجود ناهنجاری های مادرزادی
- ۴- سابقه استفاده از ایمونوگلوبولین یا ترانسفوزیون خون قبل از شروع واکسیناسیون
- ۵- سابقه بستری Sepsis بفاصله یک هفته پس از واکسیناسیون
- ۶- نوزادانیکه با وزن بیش از ۲۰۰۰ gr و کمتر از ۳۷ هفته و یا سن حاملگی بیش از ۳۷ هفته و وزن کمتر از ۲۰۰۰ gr داشتند از مطالعه حذف گردیدند.

لازم به ذکر است به والدین درمورد علت بررسی و نیاز به انجام آن توضیحات کافی داده شد و رضایت آنها جلب گردید. داده های بدست آمده از مطالعه، با استفاده از روشهای آمار توصیفی و آزمونهای آماری T-Test و  $\chi^2$  بوسیله نرم افزار آماری SPSS 13 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. در این مطالعه،  $p < 0.05$  معنی دار تلقی گردید.

### یافته ها

در این بررسی ۸۰ نوزاد فول ترم و ۷۰ نوزاد پره ترم مورد مطالعه قرار گرفتند. تمام کودکان از نظر HBsAg بررسی شدند که نتیجه منفی داشتند. طبق مطالعه انجام گرفته متوسط وزن تولد نوزادان بطور عام (۴۵۰۰-۸۰۰)  $886/09 \pm 2349/1$  گرم بوده است. اوزان  $3200$  gr و  $3400$  gr دارای بیشترین فراوانی (۸ نفر) بود. میانگین سن داخل رحمی نوزادان (۴۱-۲۵)  $4/1(25-41) \pm 35/2$  هفته بود. متوسط وزن در یکسالگی  $1441/3 \pm 8842$  گرم و وزن  $10000$  داراری بیشترین فراوانی (۳۴ نفر) بوده است. کمترین وزن در یکسالگی  $5000$  gr و بیشترین وزن  $13000$  gr بود. میانگین تیتراژ آنتی بادی کودکان  $miU/mL(0-770)$   $224/5 \pm 227/3$  بود. تیتراژ  $miU/mL$  ۱۵ و ۸۴ بیشترین فراوانی را داشت (۴ نفر) و میانگین وزن تولد نوزادان پره ترم (۱۹۸۰-۸۰۰)  $313/1 \pm 1491/2$  گرم و اوزان  $1200$  gr و  $1500$  gr و  $1800$  gr

واکسیناسیون زودرس تأثیر قابل توجهی در پیش گیری از عفونت HBV مخصوصاً بعد از تماس پری ناتال دارد. واکسن نوترکیبی (Recombinant) هپاتیت B اگر بلافاصله بعد از تولد یا در دوره کودکی تزریق شود کاملاً موثر خواهد بود (۱). میزان پاسخ به واکسن هپاتیت B در نوزادان ترم بعد از دومین دوز  $80\%$  و بعد از سومین دوز  $90\%$  گزارش شده است (۷). ولی گزارش کمیته بیماریهای عفونی آکادمی کودکان آمریکا در سال ۱۹۹۱ در مورد تأثیر واکسن هپاتیت B شامل نوزادان کمتر از  $2000$  گرم نبوده است (۸).

طبق توصیه آکادمی کودکان آمریکا شیر خواران بدون توجه به وزن هنگام تولد و سن حاملگی باید بر اساس سن تقویمی واکسینه شوند ولی بعضی از مطالعات نشان می دهد پاسخ ایمنی در نوزادان زیر  $2000$  گرم نسبت به واکسن هپاتیت B پایین می باشد (۸-۱۰).

به علت اختلاف نظر در مورد کارایی واکسن هپاتیت B در نوزادان نارس و با توجه به پیشرفت در مراقبت از نوزادان نارس و افزایش شانس زنده ماندن آنها و همچنین شیوع بالای هپاتیت B در جامعه بر آن شدیم تا مطالعه ای بر روی ایمنی زائی واکسن هپاتیت B در نوزادان نارس بطور آینده گر انجام دهیم و با نوزادان رسیده واکسینه شده مقایسه نمائیم در صورت وجود تفاوت معنی دار نتایج مربوطه را به مسئولین زیربط ارائه نماییم تا در صورت صلاحدید تغییراتی در برنامه روتین واکسیناسیون نوزادان نارس اعمال شود.

### مواد و روش ها

این مطالعه از نوع تحلیلی مقطعی می باشد که بر روی ۱۵۰ نوزاد نارس (با وزن زمان تولد کمتر از ۲ کیلو گرم و سن حاملگی کمتر از ۳۷ هفته) و رسیده (با وزن بیشتر از ۲ کیلو گرم و سن حاملگی بیش از ۳۷ هفته) که در مرکز آموزشی و درمانی الزهرا متولد شده و یا در بیمارستان کودکان پذیرش می شدند صورت گرفت. تمام این نوزادان در هفته اول زندگی واکسن هپاتیت B دریافت نموده و نوبت های بعدی واکسیناسیون واکسن هپاتیت B را طبق برنامه کشوری سال ۱۳۸۲ دریافت کردند. سه ماه پس از آخرین واکسیناسیون روتین هپاتیت B پاسخ آنتی بادی تولید شده تعیین و ثبت می گردید. (در یک سالگی). تمام بیماران دارای کد مخصوص بوده و فرم مخصوص نیز به تمام والدین جهت مراجعه به همکاران طرح داده شد. دفعات و چگونگی واکسیناسیون بطور دقیق توسط همکاران کنترل گردید.

چون طی مطالعات انجام شده قبلی درصد پاسخ های مثبت در ۲ گروه نوزادان نارس و رسیده به ترتیب  $77/4\%$  و  $98/2\%$  بود. و با در نظر گرفتن سطح اطمینان (confidence level)  $95\%$  و توان (test power)  $90\%$  حداقل تعداد نمونه برای هر یک از گروهها ۵۹ نفر محاسبه گردید و به علت احتمال عدم مراجعه یا حذف نمونه

تیتراژ آنتی بادی بسیار خوبی، یعنی بالای 100 mIU/mL را ایجاد نموده اند. ۷۹ نوزاد (۹۸/۷٪) از ۸۰ نوزاد فول ترم سروکانورشن بعد از تزریق واکسن را نشان دادند و سروکانورشن در شیرخواران پره ترم پس از واکسیناسیون هپاتیت B در ۶۸ نوزاد (۹۷/۱٪) از ۷۰ نوزاد پره ترم وجود داشت. تفاوت معنی داری در دو گروه مشاهده نشد و بطور کلی از ۱۵۰ نوزاد مورد بررسی سروکانورشن در ۱۴۳ نوزاد (۹۷/۹٪) رخ داده بود.

### بحث

اگرچه واکسیناسیون هپاتیت B از سال ۱۳۷۲ به طور روتین در ایران صورت می گیرد و لیکن مطالعات کمی در مورد پاسخ ایمنی زایی واکسن در نوزادان نارس و رسیده صورت گرفته است. در طی این مطالعه میزان تغییرات ایمنی زایی واکسیناسیون کامل هپاتیت B را در نوزادان (رسیده و نارس) بررسی نمودیم. نتایج بدست آمده نشان داد که ۹۷/۹٪ نوزادان از قدرت آنتی بادی سازی خوبی برخوردار هستند.

در برخی مطالعات شیرخواران پره ترم مخصوصاً با وزن تولد کم و سن داخل رحمی پایین پاسخ ایمنولوژیک ناکافی حتی به واکسیناسیون هپاتیت B دارند. (۱، ۸، ۱۰، ۱۱) و نتایج بعضی مطالعات نشان می دهد که در پاسخ ایمنولوژیک به واکسن هپاتیت B بین شیرخواران ترم و پره ترم تفاوت معنی داری وجود ندارد که همسو با مطالعه ما می باشد (۱۲-۱۵).

نکته مهم دیگر این است که درصد نوزادان پره ترمی که سطح حفاظتی آنتی بادی را تولید نموده اند ۹۷/۱٪ بوده است که رقم قابل ملاحظه ای می باشد.

با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردید واکسن هپاتیت B را می توان در شیرخواران زیر ۲۰۰۰ گرم تزریق نمود و نیازی به تزریق دوز اضافی یا تاخیر در تزریق وجود ندارد و ایمنی زایی واکسن در مورد نوزادان نارس و ترم تفاوتی ندارد. در مطالعه ما میزان متوسط آنتی بادی تولید شده در نوزادان پره ترم کمتر از ترم بود ولی سطح محافظتی کافی را ایجاد نموده است که مطابق با مطالعات توماس و همکارانش و هماهنگ با مطالعه انجام شده در تایوان نیز می باشد (۱۳، ۱۴).

داراری بیشترین فراوانی (۷ نفر) و ۵۰٪ از نوزادان نارس وزن کمتر از ۱۵۰۰ gr را داشتند. میانگین سن داخل رحمی نوزادان پره ترم (۲۵-۳۶)  $31.7 \pm 3.5$  هفته بود. سن داخل رحمی ۲۸ هفته و ۳۶ هفته بیشترین فراوانی (۱۷ نفر) بود. ۵۰٪ از نوزادان پره ترم، سن داخل رحمی کمتر از ۳۲ هفته را داشتند.

میانگین تیتراژ آنتی بادی کودکان پره ترم  $217.6 \pm 244.2$  mIU/mL و تیتراژ ۲۰، ۷۷ و ۱۳۴ بیشترین فراوانی (۳ نفر) را داشتند.

میانگین وزن تولد نوزادان ترم ( $3099.7 \pm 415(2250-4500)$ ) گرم بود. اوزان  $3200$  gr و  $3400$  gr دارای بیشترین فراوانی (۸ نفر) و ۵۰٪ از نوزادان ترم وزنی کمتر از  $3140$  gr را داشته اند. میانگین سن داخل رحمی نوزادان ترم  $38.24 \pm 0.79$  هفته بود.

میانگین تیتراژ آنتی بادی نوزادان ترم  $217.6 \pm 244.2$  mIU/mL (۷۶۹-۲) و  $207.1 \pm 235.8$  mIU/mL بوده است. تیتراژ  $100$  mIU/mL و  $180$  mIU/mL بیشترین فراوانی (۳ نفر) را داشته اند. طبق نتایج بدست آمده مقدار متوسط آنتی بادی در کودکان نارس پس از واکسیناسیون  $217.6 \pm 244.2$  و در کودکان ترم  $207.1 \pm 235.8$  بود ( $p=0.623$ ).

مقایسه ای نیز بطور جداگانه بین وزن نوزادان در زمان تولد و تیتراژ آنتی بادی پس از آخرین دوز واکسن صورت گرفت. با توجه به نتایج بدست آمده از آزمون  $\chi^2$  بین وزن زمان تولد نوزادان و تیتراژ آنتی بادی ارتباط معنی دار وجود داشت ( $p=0.03$ ).

برای رد عوامل مخدوش کننده وزن گیری و جنسیت نیز مد نظر قرار گرفت. نتایج نشان داد که وزن متوسط نوزادان در یک سالگی در گروه نارس  $1414.1 \pm 878.6$  گرم و در نوزادان ترم  $1471.9 \pm 889.6$  گرم بوده است ( $p=0.660$ ). براساس آزمون  $\chi^2$ ، ۵۱/۴٪ از نوزادان نارس مونث و ۴۸/۶٪ مذکر بودند و در نوزادان ترم ۵۸/۸٪ مونث بودند و تفاوت جنسیت نوزادان در دو گروه ترم و نارس معنی دار نبود ( $p=0.36$ ). با توجه به اینکه از اهداف طرح تعیین تیتراژ آنتی بادی بصورت میزان تولید آنتی بادی در دو گروه از نوزادان و تعیین عدم پاسخ  $10$  mIU/mL < و پاسخ متوسط  $100$  mIU/mL -  $10$  و نیز پاسخ خوب  $100$  mIU/mL > بوده است، بررسی در این مورد بعمل آمد که در جدول (۱) منعکس می باشد. با توجه به این جدول تنها سه کودک در گروه عدم پاسخ به آنتی بادی قرار گرفته اند در حالیکه ۸۹ کودک

جدول ۱: مقایسه مقدار آنتی بادی و وزن نوزادان

تعداد کل	وزن نوزادان				تیتراژ آنتی بادی mIU/mL
	>۲۰۰۰	۱۵۰۰۰ - ۲۰۰۰	۱۰۰۰ - ۱۵۰۰	۰ - ۱۰۰۰	
۳	۱	۰	۱	۱	۰ - ۱۰
۵۸	۲۵	۱۶	۱۵	۲	۱۰ - ۱۰۰
۸۹	۵۴	۱۵	۱۸	۲	>۱۰۰
۱۵۰	۸۰	۳۱	۳۴	۵	نتیجه کل

جهت پروسه ماندگاری لازم است. با توجه به اینکه مطالعات گسترده ای در مورد زمان ماندگاری آنتی بادی در نوزادان نارس انجام نشده است، برای شیرخواران نارس با وزن کمتر از ۲۰۰۰ گرم عاقلانه خواهد بود در ابتدای ورود به مدرسه تیتر آنتی بادی هپاتیت B کنترل گردد تا در صورت تیتر پایین آنتی بادی، مجدداً واکسن هپاتیت B تزریق شود

### تقدیر و تشکر

در پایان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که این طرح بر اساس تایید و حمایت مالی آن معاونت صورت گرفته است سپاسگزاریم.

با عنایت به اختلاف نسبتاً معنی دار وزن موقع تولد و تیتر آنتی بادی در یکسالگی ( $P=0/03$ ) به نظر می رسد معیار وزن در ساختن آنتی بادی در شیرخواران عامل مؤثرتری می باشد. بنابراین دقت بیشتری باید در ادامه پروسه آنتی بادی سازی در شیرخواران LBW و کنترل تیتر آنتی بادی در این کودکان صورت گیرد. در مطالعه ای توسط Sadeck در برزیل سال ۲۰۰۴ نیز ارتباط معنی دار وزن موقع تولد نسبت به سن داخل رحمی در تولید آنتی بادی اثبات شده است. (۱۵) استفاده از واکسیناسیون روتین در اوایل زندگی عامل محافظتی اساسی بر علیه انتقال عمودی هپاتیت B بوده و یافته های ما بیان کننده این موضوع است که تیتر بالای سر و کانورشن در نوزادان نارس نیز ایجاد میگردد ولی بدلیل احتمال کاهش تدریجی آنتی بادی در این کودکان، بررسی های دقیق تری

### References

- Motta M, Massi-pinhata M, Jorge S, Yoshida C, Souza C: Immunogenicity of Hepatitis B Vaccine in preterm and Full term infants vaccinated with in the first week of life. *Vaccine* 2002; **20**:1557-1562.
- Peter G. Immunization practices In: Behrman RE, Kilgman RM, Jenson HB. *Nelson textbook of pediatrics*. Philadelphia, W. B. Saunders Company 2004; 17ed: P: 1081
- Sherlock S, Dooly J. Disease of the liver and biliary system. Oxford England, *Black well Science*, Publication 2002: 11Ed 285-299
- Farzanegan H. The prevalence of HBsAg and HBsAb in healthy blood donors and high risk groups in IRAN. *Sang* 1979; 73-182
- Merat S, Malekzadeh R, Rezvan H. Hepatitis B in Iran. *Iranian Journal of Medical Sciences* 2000; **4**(3): 102-291
- ملک زاده ر، خطیبیان م، رضوان ح، هپاتیت ویروس در جهان و ایران اپیدمیولوژی تشخیص درمان و پیشگیری، *مجله نظام پزشکی جمهوری اسلامی ایران دوره پانزدهم*: ۱۳۷۶(۴)، ۱۸۳-۲۰۰
- Patel DM, Butler J, Feldman S, Graes GR, Rbodes PG: Immunogenicity of Hepatitis B vaccine in healthy very low birth weight infants. *The Journal of Pediatrics* 1997; **130**: 641-3
- Lau YL, Tam Ayc, Ng kw, Lam B, Lam P, Yeang CY: Response of Preterm infants to hepatitis B vaccine *J. Pediatr.* 1992; **121**: 962-5
- Kirmani KI, Lofthus G, Pichichero ME, Voloshen T, et al: Seven years follow up of vaccine response in extremely premature infants. *Pediatrics* 2002; **109**(3): 498-504
- Hall CB, Chesney PJ, Gronisch DS. Committee on infectious diseases. Update on timing of Hepatitis B vaccination for premature infants and for children with lapsed immunization. *Pediatrics* 1994; **94**(3): 403-405
- Blondheim D, Bader D, Abend M, Peniakov M, Reich D, Potesman I, Hand sher R, Gidoni I, Linder N: Immunogenicity of hepatitis B Vaccine in preterm infants. *Archives of Diseases in Childhood Fetal and Neonatal* 1998; **79F**: 206-8
- Khalak R, Pichichero ME, Dangio CT: Three year follow- up of Vaccine Response in Extremely preterm infants. *The Journal of Pediatrics* 1998; **101**: 597-603
- Saari TN, and the Committee on infections diseases: Immunization of preterm and low Birth Weight infants. *The Journal of Pediatrics* 2003; **112**: 193-8
- Huang FY, Lee PI, Lee CY, Huang ML, Chang LY, Liu SC: Hepatitis B Vaccination in preterm infants. *Archives of Diseases in childhood Fetal and Neonatal* 1997; **77F**: 135-8
- Sadaeck LS, Ramos JL. Immune response of preterm infants to hepatitis B vaccine administered with in 24 hours after birth. *J Pediatr (Rioj)*. 2004; **80**(2): 113-8.