

## NOVI PROTOKOL VAKCINACIJE PACIJENATA NA HEMODIJALIZI PROTIV HEPATITISA B - ISKUSTVO JEDNOG CENTRA

HALIMA RESIĆ, NIHAD KUKAVICA, FAHRUDIN MAŠNIĆ, NEJRA PROHIĆ, VAHIDIN ŠAHOVIĆ, SELMA AJANOVIĆ, AIDA ĆORIĆ, EMIR AVDIĆ i DŽANA HELAĆ-CVIJETIĆ

*Klinika za hemodijalizu, Klinički centar Univerziteta u Sarajevu, Sarajevo, Bosna i Hercegovina*

Pacijenti s terminalnim stadijem kroničnog zatajenja bubrega imaju smanjen odgovor na vakcinaciju protiv hepatitisa B. Cilj studije bio je utvrditi adekvatnost imunološkog odgovora prema novom protokolu protiv infekcije hepatitisom B. Studija je obuhvatila pacijente na kroničnom programu hemodijalize u razdoblju od 2008. do 2011. godine, na Klinici za hemodijalizu Kliničkog centra Univerziteta u Sarajevu. Novi protokol vakcinacije započeo je u rujnu 2009. godine. Novi protokol podrazumijevao je započinjanje vakcinacijom 6 mjeseci prije početka hemodijaliznog tretmana i nastavljanje tijekom 12 mjeseci, uz intrakutano umjesto supkutano aplikiranja prema praksi starog protokola vakciniranja u razdoblju od 2008. do 2011. godine. U studiju su bila uključena 64 pacijenta, 37 (57,81%) muškaraca i 27 (42,19%) žena. Pacijenti su bili podijeljeni u dvije skupine prema protokolu provedene vakcinacije protiv hepatitisa B. Niti jedan pacijent nije bio prethodno vakciniran, niti je u serumu imao pozitivna anti-HBs antitijela prije početka imunizacije protiv hepatitisa B. Prvu skupinu sačinjavali su pacijenti vakcinirani dozom supkutano prema protokolu koji je podrazumijevao vakcinaciju od 0, 3, 6 i 12 mjeseci (M) u razdoblju praćenja od 2008. do 2009. godine. U prvoj je skupini bilo ukupno 28 pacijenata, prosječne dobi  $55,17 \pm 11,84$  godine uz prosječnu dužinu trajanja hemodijalize  $24,65 \pm 5,32$  mjeseci. Od ukupno 28 pacijenata u prvoj skupini ih 15 nije razvilo anti-HBs antitijela. Drugu skupinu sačinjavalo je 36 pacijenata, 21 (58,33%) muškarac i 15 (41,67%) žena, prosječne dobi  $62,79 \pm 15,88$  godina i srednje dužine trajanja liječenja hemodijaliznim tretmanom  $22,16 \pm 24,53$  mjeseci. U drugoj skupini je 5 bolesnika bilo potrebno aplicirati buster dozu vaccine nakon koje su 4 pacijenta pokazala adekvatan titar antiHbs. U drugoj skupini od 36 pacijenata vakciniranih prema novom protokolu, 31 je razvio antitijela anti Hbs, uz statistički značajnu razliku ( $p < 0,005$ ). Ukupan postotak pacijenata s pozitivnim anti Hbs antitijelima u drugoj skupini iznosio je 97,43%, a postotak onih koji su zahtijevali primjenu buster doze 12,82%. Autori zaključuju da su se vakciniranje pacijenata u krajnjem stadiju kroničnog bubrežnog zatajenja 6 mjeseci prije započinjanja hemodijaliznog tretmana, kao i intrakutano umjesto supkutane aplikacije vaccine, pokazale daleko učinkovijima u postizanju odgovarajućeg titra anti-HBs.

**Ključne riječi:** hemodijaliza, vakcinacija, anti HBs, antitijela, hepatitis B

**Adresa za dopisivanje:** Halima Resić, dr. med.  
Klinika za hemodijalizu  
Klinički centar Univerziteta u Sarajevu  
Bolnička 25  
71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina  
E-pošta: halima.resic@undt.ba

### UVOD

Širom svijeta postoji više od 2 milijuna ljudi sa serološki dokazanom infekcijom hepatitisom B. Od toga je 400 milijuna kroničnih nosilaca, a 500.000 do 1,2 milijuna godišnje umre od ciroze jetre i hepatocelularnog karcinoma. Uprkos napretku antivirusne terapije samo će manji broj pacijenata s kroničnim hepatitisom B imati održiv imuni odgovor tijekom života. Dakle, primarna je prevencija vakcinacijom kako bi se povećao imunitet populacije, a to je i dalje glavno oružje u kontroliranju infekcije virusom hepatitisa B (HBV).

Trenutno dostupne vaccine protiv hepatitisa B su izuzetno sigurne za primjenu i imaju učinkovitost  $>90\%$ , a djeluju protiv svih HBV serotipa i genotipa. Infekcija HBV-om potencijalno može biti iskorijenjena globalnom vakcinacijom (5).

Pacijenti s kroničnom bubrežnom bolešću (HBB) imaju smanjeni odgovor na vakcinaciju zbog općeg slabljenja imunološkog sustava povezanog s uremijom. U odnosu na vakcinaciju u pacijenata bez HBB-a, na primjer, dijalizni pacijenti imaju niži titar antitijela i nemogućnost održavanja adekvatnog titra antitijela tije-

kom vremena. Relativno niska koncentracija antitijela kao odgovor na vakcinu je u korelaciji sa stupnjem oštećenja bubrega, ali ne i s načinom hemodijaliznog tretmana. Čini se da poremećaj T-limfocita u prezentiranju antigene stanice može biti odgovoran za promijenjeni stečeni imunitet u pacijenata s HBB-om, ali je nužno provođenje dodatnih studija (1,2).

Malo je podataka o adekvatnosti dijalize na porast antitijela kao odgovora na provedenu vakcinaciju. Postoje, međutim, neizravni dokazi da učestale hemodijalize mogu biti povezane s poboljšanim odgovorom.

Uprkos dokazima da smanjena učinkovitost HD tretmana djeluje na imuni odgovor, aktualne su preporuke za vakcinaciju bolesnika s HBB-om. U Sjedinjenim Američkim Državama su Savjetodavni odbor za imunizacijsku praksu (ACIP) i Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC) razvili preporuke za imunizaciju.

#### Vakcina protiv hepatitisa B

Razvoj vakcine protiv hepatitisa B smatra se jednim od najvećih dostignuća moderne medicine. Na raspolaganju su tri različite vrste vakcina protiv hepatitisa B na osnovi toga kako su proizvedene (iz plazme, kvasca ili iz stanica sisavaca).

Prva generacija vakcina protiv hepatitisa B dobijena je koncentracijom i pročišćivanjem plazme od HBsAg kako bi se dobilo 22 Nm subviralnih čestica. Rekombinantne vakcine protiv hepatitisa B proizvedene iz kvasca su prvi put uvedene sredinom 1980-ih. Izrađuju se kloniranjem HBVS gena u stanicama kvasca. Te vakcine sadrže neglikolizirani HBV-S protein kao omotač antigena koji mora biti oslobođen iz kvasca tijekom procesa proizvodnje. Te vakcine ne sadrže antigene prije S oblasti. Razvijena su i široko dostupna dva tipa rekombinantnih vakcina proizvedenih iz kvasca bez "timerosala" (Recombivax HB i Energix-B). Upravo je taj tip vakcine primijenjen u našoj studiji. Treći tip vakcine protiv hepatitisa B dobija se iz stanica sisavaca kao rekombinantna vakcina.

#### Vakcina protiv infekcije pacijenata virusom hepatitisa B u terminalnom stadiju bubrežne bolesti

Kontroverze u vezi ukupne učinkovitosti postoje, uključujući i odnos troškova i koristi kada je u pitanju vakcinacija protiv virusa hepatitisa B (HBV) bolesnika s HBB-om. Primarni argument protiv rutinske vakcinacije protiv hepatitisa B kod ove populacije pacijenata temelji se na sljedećim zapažanjima:

- Smanjena učinkovitost vakcine – u usporedbi sa stopom odgovora od preko 90% pacijenata bez bubrežne insuficijencije, samo 50% do 60% pacijenata s HBB-om razvija antitijela na hepatitis B poslije vakcinacije;
- Bolesnici s kroničnom bolešću bubrega koji ne zahtijevaju dijalizu imaju veću reakciju antitijela, što ukazuje na to da imuni odgovor korelira sa stupnjem oštećenja bubrega;
- Nizak stupanj infekcije hepatitisom B – učestalost infekcije hepatitisom B u bolesnika na hemodijalizi je samo oko 0,12%.

Uprkos ovim podacima mnogi doktori preporučuju da pacijenti na kroničnom hemodijaliznom liječenju prime vakcinu protiv hepatitisa B. Potporu toj preporuci pruža kontrolirani pokus (*case-control study*) kojim je utvrđeno da bolesnici na hemodijalizi koji su primili vakcinu protiv hepatitisa B imaju 70% manji rizik do infekcije u usporedbi s pacijentima koji nisu vakcinirani.

U jednoj studiji provedenoj u SAD-u, Centar za kontrolu bolesti (CDC) analizirao je sve slučajeve HBV infekcije kod hemodijaliznih pacijenata, nakon čega je trebao ponovno dati svoju preporuku svim pacijentima na hemodijalizi i uputiti ih da li da obave vakcinaciju protiv hepatitisa B ili ne. CDC je smatrao da redovno vakciniranje pacijenata smanjuje potrebu za mjesečnim nadzorom statusa antigena i antitijela kod onih koji su već razvili specifična antitijela, pa je, prema tome, preporuka za obavljanje vakcinacije sigurna (6,8).

Broj dijaliznih pacijenata koji su primili hepatitis B vakcinu značajno se povećao tijekom posljednjih nekoliko desetljeća. Na primjer, postotak dijaliznih pacijenata koji su primili najmanje tri doze vakcine protiv hepatitisa B porastao je sa 5,4% u 1983. godini na 56% u 2002. godini.

Zbog općenito niske stope odgovora u pacijenata s HBB-om, učinjeni su višestruki pokušaji kako bi se poboljšao imuni odgovor na vakcinu protiv hepatitisa B.

Postoje podaci koji podržavaju strategiju poboljšanja proizvodnje antitijela na hepatitis B vakcinu u pacijenata s HBB-om, a koja uključuje sljedeće:

- Dvostruka doza vakcine predložena je za pacijente bez HBB-a (tj. doze od 40 mg u pacijenata s HBB-om);
- Vakcinu aplicirati u deltoidni mišić;
- Davanje dodatnih (buster) doza pacijentima s HBB-om (npr. Heptavak 40 mg u razdobljima od nula, je-

dan, i šest mjeseci ili Engerix<sup>®</sup> 40 mg u razdobljima od nula, jedan, dva i šest mjeseci);

- Započinjanje sa serijom vakcinacija čim je kronična progresivna bubrežna bolest dokazana kod pacijenta kod kojih su utvrđeni negativni biljezi na hepatitis B. Liječnici ne trebaju čekati da pacijent započne s dijalizom kako bi započeli s vakcinacijskim protokolom;
- Lažna seropozitivnost na hepatitis B površinski antigen (HBsAg) može se javiti ubrzo nakon vakcinacije, a u roku od tri tjedna od vakcinacije preporučeno je izbjegavati testiranje seruma na HBsAg;
- Dati dodatne tri doze vakcina pacijentima na dijalizi koji nisu uspjeli dati pozitivan odgovor na inicijalne serije vakcina koji je definiran time da je titar antitijela  $\leq 10$  IU/L, jedan do dva mjeseca poslije završetka prve serije vakcinacije;
- Dati jednu buster dozu od 40 mg ako titar antitijela pada na  $\leq 10$  IU/L pacijentima koji su prvobitno razvili antitijela kao odgovor na vakcinaciju ili poslije prirodne infekcije hepatitisom B. Čini se da nema koristi ponavljati buster dozu onim pacijentima čiji titar antitijela ostaje na vrijednostima  $\leq 10$  mg/L.

Uprkos dostupnosti vakcina protiv hepatitisa B, najvažniji čimbenici sprječavanja širenja infekcija hepatitisa B u hemodijaliznim centrima su održavanje ili primjenjivanje univerzalnih mjera prevencije. CDC također preporučuje izolaciju antigen pozitivnih bolesnika i zabranjuje upotrebu zajedničkih lijekova (na

primjer, zajedničkih ampula heparina) među dijaliznim pacijentima (4,10).

## CILJ

Cilj naše studije bio je utvrditi adekvatnost vakcinacije protiv infekcije hepatitisom B prema novom protokolu koji je podrazumijevao započinjanje vakcinacije 6 mjeseci prije započinjanja hemodijaliznog tretmana i intrakutani način aplikacije.

## PACIJENTI I METODE

Studija je provedena kao klinički kontrolirana retrospektivno-prospektivna studija u razdoblju od 2008. do 2011. godine. Tijekom studije praćeni su pacijenti u preterminalnom i u terminalnom stadiju bubrežne bolesti, prema starom i novom protokolu vakcinacije protiv hepatitisa B. U studiju su bila uključena 64 pacijenta. Svi su pacijenti bili podijeljeni u dvije skupine. Do 2008. godine u našem hemodijaliznom centru vakcinacija je obavljana prema tada važećem protokolu, davanjem četiri vakcine raspoređene prema shemi 0, 3, 6 i 12 mjeseci te supkutano aplikacijom. Od rujna 2009. godine uveden je novi protokol vakcinacije Energix B vakcinom prema shemi prikazanoj u tablici 1.

Tablica 1.

Shema vakcinacije protiv hepatitisa B provedena u našoj studiji.

IME I PREZIME PACIJENTA: .....

PRVA HD:.....

MJESECI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
NAČIN APLIKACIJE	sc	sc	sc			sc								ic	ic	ic	ic		ic	ic					

sc: 2 amp ENERGIX B sc

ic: 1 amp ENERGIX B ic (u razmaku od 2 nedjelje)

UKOLIKO JE SEROLOGIJA 3 NEGATIV > "NON-RESPONDER sc" > PRELAZAK NA ic VAKCINACIJU

UKOLIKO JE SEROLOGIJA 5 NEGATIV > "NON-RESPONDER ic" > NE TREBA DALJA VAKCINACIJA

**BOOSTER sc:** 2 amp ENERGIX B sc, SEROLOGIJA 3 MJESECA KASNIJE

**BOOSTER ic:** 4 X 1 amp ENERGIX B ic U RAZMAKU OD 2 NEDJELJE > SERO ZAVRŠNI

Prvu skupinu su činili pacijenti vakcinirani prema starom protokolu vakcinacije, u razdoblju od 2008. godine do rujna 2009. godine. U toj je skupini bilo 28 pacijenata, od čega 16 (57,14%) muškaraca i 12 (42,86%) žena. Prosječna životna dob pacijenata u prvoj skupini iznosila je  $55,17 \pm 11,84$  godina, uz prosječnu dužinu trajanja hemodijaliznog tretmana  $24,65 \pm 5,32$  mjeseci. Drugu je skupinu pacijenata sačinjavalo 36 pacijenata u četvrtom stadiju bubrežne slabosti (HBB), preterminalnoj fazi, te pacijenti koji su započinjali s hemodijaliznim tretmanom, od čega 21 (58,33%) muškarac i 15 (41,67%) žena prosječne dobi  $62,79 \pm 15,88$  godina i srednje dužine trajanja liječenja hemodijaliznog tretmana  $22,16 \pm 24,53$  mjeseci. Obje su skupine pacijenata prije početka vakcinacije imale negativne biljege za hepatitis B. Pacijenti su bili tri puta tjedno na hemodijaliznom tretmanu s programiranim ultrafiltracijom.

#### Statistička analiza

Statistička analiza je obavljena uz pomoć verzije 16.0 programa SPSS. Upotrijebljene su standardne statističke deskriptivne metode izračuna srednjih vrijednosti i standardnih devijacija zasebno za obje skupine pacijenata. Rezultati su statistički obrađeni tako da je određena srednja vrijednost ( $\bar{x}$ ), standardna devijacija (SD) i standardne pogreške srednje vrijednosti (SEM) za svaki promatrani parametar unutar skupina. Razlika između srednjih vrijednosti određena je Studentovim testom i hi-kvadrat testom ( $\chi^2$ ). Vrijednosti manje od 0,05 ( $p < 0,05$ ) uzete su kao značajne. Korelacija između uspoređivanih parametara određena je po Spearmanu, Wilcoxonovom metodom, uz multiplu regresijsku komparaciju obavljenu također  $\chi^2$  testom, dok je točnost kompariranih skupina obrađena Mann-Whitneyevim testom (Z). Radi točnije komparacije dvaju različitih pristupa uključena je i kontrolna skupina pacijenata C.

## REZULTATI

Studija je urađena nakon 11 godina iskustva apliciranja supkutanih (SC) vakcina protiv hepatitisa B, jednom jednostrukom dozom (SD) ili dvostrukom dozom (DD) i započinjanja novim protokolom 2009. godine. Ukupno su vakcinirana 64 pacijenta, 37 muškaraca (M) i 27 žena (Ž) u dobi između 17 i 85 godina, od kojih je 51 pacijent je bio na kroničnom HD tretmanu 10 mjeseci ili duže (1-120 mjeseci), a 13 pacijenata u petom stadiju HBB-a s klirensom kreatinina od  $18 \pm 12,4$  mL/min. Dvadeset pacijenata, 13 muškaraca (M) i 7 žena (Ž) vakcinirano je dozom od 20  $\mu$ g IC, u mjesecima (M): 0, 1, 2, 3, 6, 12 (A), 8 pacijenata dozom od 40  $\mu$ g (B), a 36 pacijenata IC načinom aplikacije danj u dozi od 40  $\mu$ g prema shemi u tablici 1.

Pet bolesnika dobilo je buster dozu budući da je serologija nakon 12 mjeseci bila negativna i da je titar antitijela bio  $< 10$  UI/L. Titar anti-HbS je određivan nakon 9, 12, 18 mjeseci i dvije godine nakon posljednje aplikacije. Ako je razina anti-HbS  $< 10$  mIU/mL, dodatno je uključena 20  $\mu$ g buster doza (2 ampule Energix B od 1 mL) 8, 9 i 10 mjeseci nakon posljednje aplicirane vakcine. Pacijenti u obje skupine su imali slične demografske karakteristike (spol, dob) i stopu praćenja uspješnosti provedene vakcinacije za obje skupine. U analizu je uključena i kontrolna skupina C, 35 pacijenata na kroničnom programu hemodijalize, koji su imali adekvatan odgovor nakon provedene vakcinacije protiv hepatitisa B.

Srednja dob muškaraca iznosila je  $61,15 \pm 8,96$  godina, a srednja dob žena  $63,8 \pm 5,74$  godina. Srednja dužina trajanja HD tretmana za muškarce iznosila je  $13,56 \pm 14,66$  mjeseci, a za žene  $25,89 \pm 19,45$  mjeseci. Ukupna srednja životna dob pacijenata u drugoj skupini iznosila je  $62,79 \pm 15,88$  godina, dok je ukupna srednja dužina trajanja HD u prvoj skupini pacijenata iznosila je  $22,16 \pm 24,53$  mjeseci (tablica 2).

Tablica 2.

Demografski podaci obih ispitivanih skupina.

Skupina	Spol M/Ž	Dob $\pm$ SD	*BMI $\pm$ SD, srednja vrijednost, (raspon) kg	Pušači
**Bez odgovora (NR)	13/8	53,26 $\pm$ 18,55 (21–69)	67,4 $\pm$ 17,88	17
***S odgovorom (R)	25/18	47,99 $\pm$ 21,65 (20–59)	70,08 $\pm$ 21,71	14
P	1.0	$< 0,01$	0,310	0,499

\*BMI - indeks tjelesne mase, \*\*Nonresponders – bez odgovora, \*\*\* - s odgovorom

Tablica 3.

*Distribucija pacijenata u obje skupine koji su imali pozitivan odgovor 12 mjeseci nakon početka vakcinacije u usporedbi s kontrolnom skupinom pacijenata*

	A (n:28)*	B (n:36)**	C (n:35)***	$\chi^2$ , P
Responders (R)	12 (42,86%)	31 (86,11%)	35 (100%)	*16,84, <0,05
Nonresponders (NR)	16 (57,14%)	5 (13,89%)	0	**14,3, <0,05

Tablica 4.

*Titar anti-HbS antitijela u serumu kod obje skupine pacijenata nakon 9, 12, 18 i 24 mjeseca od početka vakcinacije.*

Anti-HbS razina u serumu (IU/mL) kontrolirani na	A (n=13) R $\pm$ SD	A i B (n=44) R $\pm$ SD	B (n=31) R $\pm$ SD	C (n=35) $\pm$ SD
**M9	67.23 $\pm$ 31.12	119.1 $\pm$ 28.7	124.3 $\pm$ 48.3	51.2 $\pm$ 47.3
M12	55.54 $\pm$ 33.65	127.9 $\pm$ 67.5	78.3 $\pm$ 48.5*	94.6 $\pm$ 37.2*
M18	60.9 $\pm$ 12.47	106.7 $\pm$ 59.4	77.3 $\pm$ 24.7*	45.3 $\pm$ 34.9
M24	34.7 $\pm$ 28.76	105.3 $\pm$ 44.8	52.3 $\pm$ 19.9*	52.2 $\pm$ 26.9*

\*P<0,05; R- s odgovorom, \*\* M - mjeseci

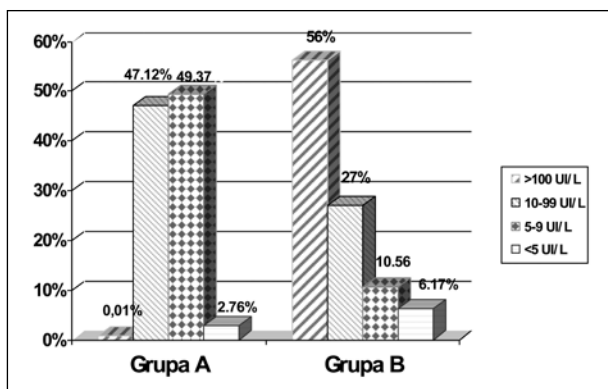
Svi su pacijenti u skupini bez odgovora i većina onih u skupini s odgovorom bili pacijenti na kroničnom programu HD-a, dok je zastupljenost muškaraca u obje skupine bila statistički značajnija, 38 (M). U skupini bez odgovora, 17 pacijenata su bili pušači, 5 je prestalo pušiti neposredno prije uključivanja u studiju, dok je preostalih 12 prestalo pušiti 4 do 7 godina prije uključivanja u studiju. U prvoj je skupini bilo ukupno 28 pacijenata, 16 muškaraca i 12 žena. Nitko od pacijenata nije imao pozitivne biljege za hepatitis B. Svi pacijenti iz prve skupine vakcinirani su prema starom protokolu imunizacije protiv hepatitisa B, prema shemi 0, 2, 3, 6 i 12 mjeseci (supkutano). Odgovarajući podaci za skupinu s odgovorom su: 14 pušača i 5 bivših pušača. Za dvije osobe u skupini bez odgovora i jednu u skupini s odgovorom, podaci o ranijem pušenju nisu bili dostupni. Prosječne vrijednosti BMI-a (indeks tjelesne mase) bile su veće u skupini s odgovorom, kao i prosječna dob, koja je veća u skupini pacijenata bez odgovora (P< 0,01 za obje ispitivane skupine).

Srednja dob muškaraca iznosila je 52,06 $\pm$ 9,12 godina, a srednja dob žena 57,16 $\pm$ 6,29 godina. Srednja dužina trajanja HD tretmana za muškarce iznosila je 24,58 $\pm$ 4,76 mjeseci, a za žene 28,64 $\pm$ 10,12 mjeseci. Ukupna srednja životna dob pacijenata u prvoj skupini iznosila je 55,17 $\pm$ 11,84 godina. Ukupna srednja dužina trajanja HD u prvoj skupini pacijenata iznosila je 24,65 $\pm$ 5,32 mjeseci.

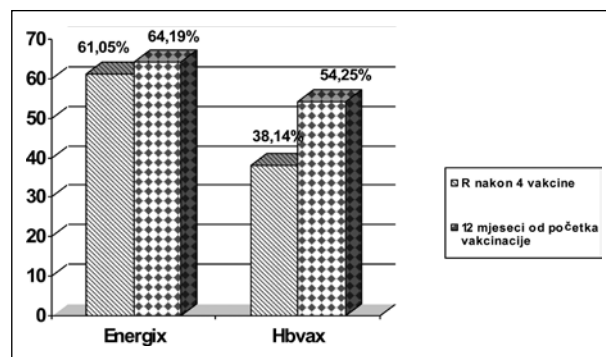
Kada je u pitanju dob, statistička analiza podataka je učinjena korelacijom i jednostavnom linearnom regresijom, a testovi pokazuju da s povećavanjem starosne dobi (neovisne varijable) stečeni početni titar opada (R = -0.212, P< 0,05). Isti su rezultati dobijeni i s obzirom na krajnju razinu titra kao zavisno promjenjivu. (R = -0,296, P<0,01).

Rezultati u tablici 2 pokazuju značajnu razliku između skupine A, vakcinirane prema starom protokolu (SC) i skupine B pacijenata vakciniranih protiv hepatitisa B novim protokolom (IC) i načinom apliciranja. Statistički, razlika među skupinama je značajna, u odnosu na broj pacijenata s odgovorom u skupini B, u usporedbi s ukupnim brojem pacijenata bez odgovora (P<0,05).

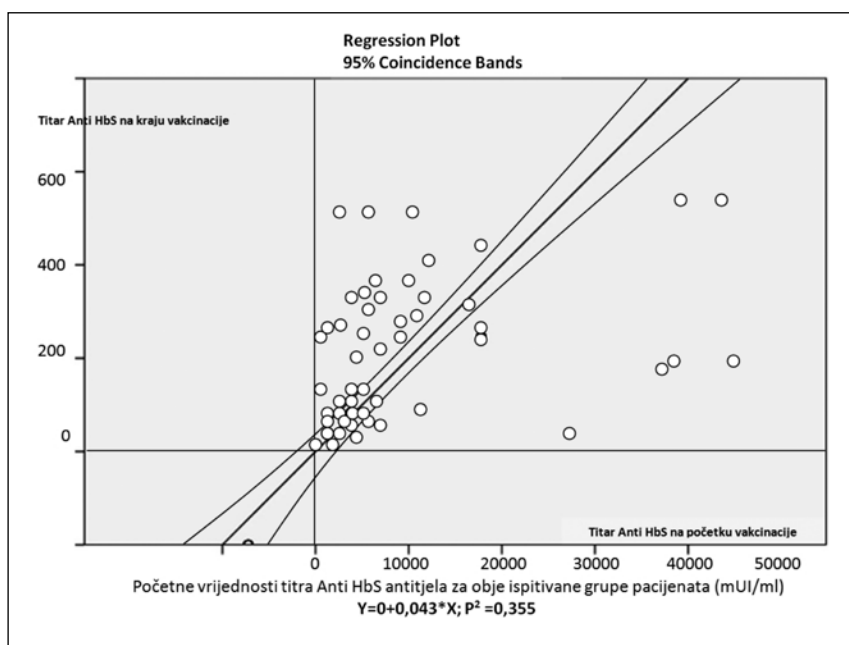
Visoki titar antitijela u serumu javio se u pacijenata skupine B (anti HbS>10 IU/mL), uz statistički značajnu razliku (p<0,05) u usporedbi s A skupinom i kontrolnom skupinom. Veoma je značajna razlika između analiziranih skupina u odnosu na broj neophodnih buster doza. Rezultati tijekom razdoblja praćenja u studiji, u usporedbi sa SC pojedinačnim ili dvostrukim dozama danih vakcina protiv HBV infekcije, u odnosu na IC način apliciranja, pokazali su statistički veoma značajnu razliku uz 86,11% uspjeha kada je u pitanju IC način i samo 46,43% za SC aplikaciju vakcine prema starom protokolu. Razina anti HbS-a bila je zadovoljavajuća u obje ispitane skupine pacijenata samo na početku studije, uz viši titar antitijela u skupini B (sl. 1).



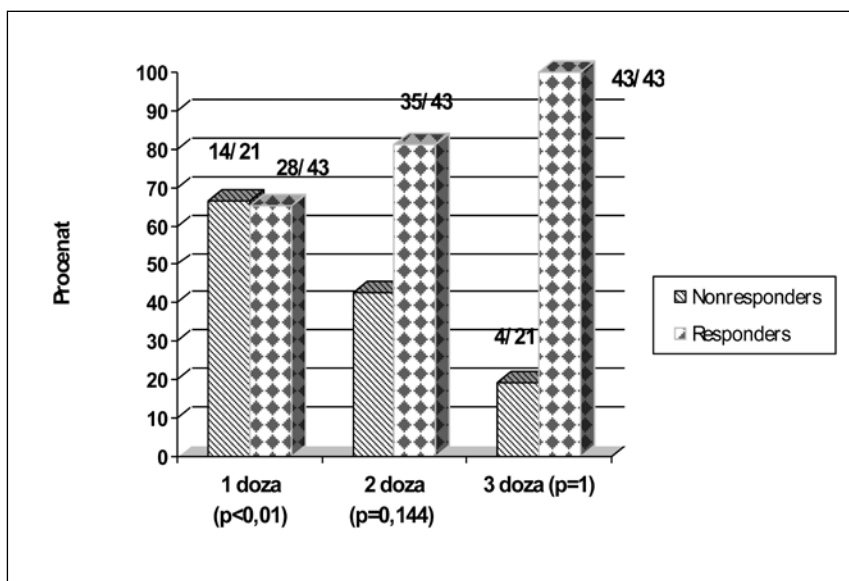
Sl. 1. Titar antitijela anti-HbS u serumu, 12 mjeseci nakon početka vakcinacije



Sl. 2. Postotak testiranih ispitanika s odgovorom nakon četiri vakcine i 12 mjeseci poslije, za oba tipa primljenih vakcina.



Sl. 3. Linije regresije pokazuju krajnje vrijednosti titra anti-HBs i njegove varijacije (zavisna promjenjiva) u odnosu na titar prikazan nakon jednog mjeseca od kraja započete vakcinacije (nezavisna promjenjiva). Koefficient korelacije je visok ( $R = 0,355$ ), i obje promjenjive pozitivno su statistički značajno povezane ( $P < 0,01$ ).



Sl. 4. Broj vakciniranih pacijenata koji su postigli zadovoljavajući titar anti-HbS >10 mIU/mL)

Usporedba statističkih rezultata između muškaraca i žena pokazala je statistički značajne vrijednosti za početne vrijednosti titra (Mann-Whitneyev test  $Z = -2,485$ ,  $p = 0,0130$ ), dok razlika nije bila statistički značajna u odnosu na krajnje vrijednosti titra anti-HbS antitijela (Mann-Whitneyev test  $Z = -1,422$ ,  $p = 0,155541$ ) na kraju studije (sl. 1). Energix Novi protokol (IC) Hbvax stari protokol (SC); ( $P = 0,03$ ,  $\chi^2$ test).

Poslije svake doze u skupini bez odgovora, u usporedbi sa skupinom s odgovorom, p vrijednosti za razlike u stopi odgovora između dviju skupina statistički su obrađene Fisherovim testom točnosti ( $p=0,144$ ).

*Imuni odgovor.* Od 20 pacijenata bez odgovora na završetku studije, odgovarajući titar anti-HbS >10UI/mL pojavio se nakon prve doze u 14 (66,67%) pacijenata, nakon druge doze u 18 (42,86%) pacijenata i nakon treće doze u 4 (19,4%) pacijenta. U skupini s odgovorom, 28(65,11%)pacijenata nakon prve doze imalo je odgovarajući titar anti-HbS, 35 (81,4%) pacijenata nakon druge doze i 43 (100%) pacijenta nakon treće doze (sl. 4). Od 5 pacijenata bez odgovora, u jednog se pacijenta nije moglo detektirati razinu anti-HBs, a 4 su pacijenta imala razinu anti-HBs od 8,5 UI/mL.

Poslije 3 doze vakcine, od ukupno 21 pacijenta bez odgovora, 17 (80%) pacijenata je razvilo titar anti-HBs > od 10 UI/mL. Svi pacijenti u kontrolnoj skupini imali su titar anti-HBs od >10 UI/mL poslije 3 doze. Svi su pacijenti u obje skupine pozitivno odgovorili na vakcinu protiv hepatitisa B i na početku su razvili zadovoljavajuću razinu antitijela anti-HbS. Podaci za obje skupine zajedno ukazuju na to da prethodni pacijenti bez odgovora anamnestički pokazuju odgovor na revakcinaciju s obzirom na to da je znatno više pacijenata razvilo zaštitna anti-HBs antitijela već nakon prve vakcine (26/43 - 60,47% u odnosu na 5/16 - 31,25% usporedbu između prve i druge skupine,  $P < .005$ , Fisherov test točnosti).

Uprkos nepostojanju dovoljne zaštitne razine anti-HBs antitijela nastalih ranijom vakcinacijom, neki su pacijenti u prvoj skupini pozitivno odgovorili na prisustvo anti-HbS, što ukazuje na to da su ipak bili zaštićeni od infekcije. Novi protokol vakcinacije i revakcinacije bio je veoma učinkovit u poticanju imunološkog odgovora s obzirom na to da nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti poslije treće primljene doze (38 u odnosu na 43).

Odgovor na vakcinaciju prikazan je u tablici 5. Nakon jednog mjeseca od početka vakcinacije svi su pacijenti imali titar antitijela >10 UI/mL, a 59% ih je pokazalo titar anti-HbS > 10 IU/mL. Tablica 5. prikazuje ovisnost između titra antitijela i odnos u pacijenata nakon prvog mjeseca (početni titar) ili nakon 9 odnosno 12 mjeseci (krajnji titar) od završetka vakcinacije. Prikazani su rezultati i razlike prema spolu. Može se uočiti da je vakcina imala mnogo bolji odgovor u žena koje su pokazale održivom veću razinu titra tijekom vremena.

#### Područje koincidencije

U tablici 6 prikazan je titar antitijela anti-HbS uz značajnu razliku između intrakutano aplicirane vakcine i znatno nižeg titra nakon 12 mjeseci od početka vakcinacije za SC način apliciranja. Vrijednosti su navedene najprije nakon 6 mjeseci od samog početka vakcinacije, od prve primljene doze, i godinu dana od početka vakcinacije. Vrijednosti titra anti-HbS kod SC načina su znatno niže uz nižu razinu održavanja titra u odnosu na IC način primjene vakcine.

Prema našim rezultatima novi način apliciranja vakcine protiv hepatitisa B intrakutano dao je statistički značajne rezultate u odnosu na supkutani način aplikacije prema starom protokolu vakcinacije.

Tablica 5.

*HBV imunitet u vakciniranih ispitanika praćenih tijekom razdoblja od 9, 12 i 24 mjeseca od početka vakcinacije; distribucija prema spolu.*

Vakcinirani HD pacijenti	Broj pacijenata	Srednja vrijednost titra anti-HbS nakon 9 mjeseci od početka vakcinacije UI/mL	Srednja vrijednost titra anti-HbS nakon 12 mjeseci od početka vakcinacije UI/mL	Srednja vrijednost titra anti-HbS nakon 18 mjeseci od početka vakcinacije UI/mL
Muškarci	37	79.5 (77.1-106,3)	85.95 (69.3-101.3)	82.4 (50.6-134.2)
Žene	27	106.4 (119.8-133.5)	108.94 (81.8 – 118.3)	128.8 (85.8-193.4)
Ukupno	64	182.8 (142.6-195.0)	195.8 (114.7 – 215.1)	109.1 (79.6-149.6)

Tablica 6.

Srednja vrijednost anti-HBs titra (UI/mL) 9 mjeseci nakon početka vakcinacije i nakon jedne godine, prema načinu aplikacije.

Vrsta vakcine	Broj pacijenata	Titar broj M	Titar broj Ž	Vrijednosti 6 mjeseci od početka apliciranja vakcine (95% CI*)	Vrijednosti 12 mjeseci od početka apliciranja vakcine (95% CI*)
Energix B (IC)	36	21	15	73,3 (36,9-96,6)	20,3 (7,2-46,15)
Hbvax (SC)	28	16	12	180,3(85,5-145,7)	80,67 (33,4-100,2)
Ukupno	64	37	27	202,4(142,6-217,0)	100,9 (69,2-131,4)

Prema novom protokolu, već nakon prve tri doze vakcine, u 83,27% ispitanika imuni odgovor bio je zadovoljavajući, za razliku od prve skupine pacijenata u kojoj je, nakon završene imunizacije protiv hepatitisa B, 53,57% pacijenata imalo titar antitijela anti-HbS <10UI. Nakon završetka vakcinacije prema novom protokolu 97,23% pacijenata razvilo je antitijela na hepatitis B, uz titar antitijela protiv hepatitisa B >10UI, što je statistički predstavljalo značajnu razliku u odnosu na prvu skupinu pacijenata sa svega 47,12% titra antitijela >10 UI.

Postotak pacijenata koji su imali zadovoljavajući odgovor mjesec dana nakon završetka programa imunizacije, već nakon godinu dana imao je titar antitijela <10 UI/L, a ti su pacijenti zahtijevali uvođenje dodatnih doza vakcine. U drugoj skupini gotovo su svi pacijenti imali zadovoljavajući titar antitijela u krvi već tri mjeseca nakon početka imunizacije.

## RASPRAVA

Veliki je broj metoda koje su predložene kako bi se smanjila stopa slabog imunološkog odgovora nakon davanja standardnih vakcina protiv hepatitisa B.

U našoj studiji koja je obuhvatila 64 pacijenta, titar anti-HBs antitijela bio je znatno niži u A skupini (pacijenti bez odgovora) u odnosu na skupinu B ( $P < 0,001$ , respektivno) odnosno, u skupini bez odgovora bili su pacijenti koji su bili vakcinirani supkutanom aplikacijom i na početku dijaliznog tretmana. To ukazuje da status pacijenata bez odgovora, u smislu stvaranja adekvatnog imunološkog odgovora na anti-HbS, ne može biti izolirani imunološki slučaj, već da se, prije svega, radi o općem fenomenu uzrokovanom osnovnim poremećajem bubrežne funkcije, dužinom trajanja HD tretmana i samim načinom prvobitno korištene aplikacije vakcina protiv hepatitisa B. Anti-HBs razina poslije svake doze za sve pacijente u obje ispitivane skupine prikazana je u sl. 2. U nekoliko se provedenih studija analiziralo intradermalnu u odnosu na supku-

tanu aplikaciju vakcina protiv hepatitisa B u bolesnika s kroničnom bolešću bubrega na hemodijalizi (skupina koja općenito ima suboptimalan odgovor na vakcinaciju). Meta-analizom 12 provedenih studija zaključeno je da je razlika u Sc i IC načinu apliciranja u ovih bolesnika nije imala značenja u titru anti-HbS (razdoblje praćenja 6 do 60 mjeseci) (13-17).

U drugim studijama, evidentirana je povećana učinkovitost intradermalne aplikacije u odnosu na supkutano aplicirane vakcine u pacijenata na HD-u bez odgovora. U jednoj je studiji praćeno 50 bolesnika na hemodijalizi koji su vakcinirani ili intradermalno ili supkutano u dozi od ukupno 80 mcg rekombinantne vakcine (18,19). Stopa odgovora je nakon 20 mjeseci bila mnogo veća u skupini pacijenata koji su vakcinirani intradermalno (54% u odnosu na 0%) (25). Rezultati naše studije su pokazali slične rezultate, budući da je 97,43% pacijenata uz intradermalno apliciranu vakcinu imalo pozitivan anti Hbs antitijela, u odnosu na 42,46% u skupini pacijenata vakciniranih supkutano. Česte i male doze intradermalne primjene vakcine protiv hepatitisa B mogu održati zaštitnu razinu anti-HBs antitijela kod hemodijaliznih pacijenata koji nisu imali adekvatan imuni odgovor na vakcinu protiv hepatitisa B (21,25). U našoj studiji, u skupini s odgovorom, žene su pokazale održivijim razinu titra anti-HbS tijekom razdoblja praćenja, što su pokazale i neke druge studije (11).

U nekim studijama (25) istodobna primjena interferona alfa, interferona gama, ili interleukina-2, uz standardnu shemu vakcinacije protiv hepatitisa B povećala je imuni odgovor u pacijenata koji su na kroničnom hemodijaliznom liječenju, ali podaci iz drugih studija to negiraju (26). Kada su u pitanju ostale vakcine, uključeni su još imunološkogenski adjuvansi, kao što su neallum, proizvedeni iz osnove monofosforil-lipida, MF-59 (27). Preliminarna istraživanja ukazuju na to da te vakcine izazivaju viši titar anti-HBs antitijela, ali studije se i dalje provode i potrebno je potvrditi te rezultate. U našoj studiji nismo imali mogućnost koristiti adjuvans tijekom vakcinacije.



U studiji, koja je uključila 105 pacijenata bez odgovora, vakciniranih komercijalno dostupnim vakcinama protiv hepatitisa B, u dobi od 20 do 60 godina, HBsAg/AS04 vakcina, u usporedbi s revakciniranim, komercijalno dostupnim vakcinama protiv hepatitisa B, imala je adekvatniji odgovor sa zadovoljavajućim titrom anti-HbS (23). Poslije tri doze, stopa odgovora je 98% u odnosu na 68% među pacijentima vakciniranim standardnim vakcinama. Ta je vakcina trenutno odobrena u Europi za pacijente starije od 15 godina koji su u terminalnom stadiju bubrežne bolesti, uključujući i one koji su u fazi pripreme radi započinjanja liječenja bubrežnom zamjenskom terapijom, kao i za one koji su već na hemodijaliznom tretmanu.

### ZAKLJUČAK

- Pacijenti u terminalnoj fazi kronične bubrežne bolesti (HBB) imaju smanjeni odgovor na vakcinaciju zbog općeg smanjenog odgovora imunološkog sustava povezanog s uremijom.
- U odnosu na vakcinaciju kod pacijenata bez HBB-a, dijalizni pacijenti imaju niži titar antitijela i u nemogućnosti su održati adekvatne doze titra antitijela tijekom vremena.
- Bolji odgovor nakon imunizacije protiv infekcije hepatitisom B u našoj studiji daje intradermalni-intrakutani način aplikacije vakcine protiv hepatitisa B, u usporedbi sa supkutanim načinom aplikacije.
- Iako je razvoj, a naročito postojanost titra zaštitnih antitijela kao odgovora na vakcinu protiv hepatitisa B kod dijaliznih pacijenata često suboptimalan, preporučuje su i dalje vakciniranje pacijenata s HBB-om protiv hepatitisa B.
- Odgovor antitijela na hepatitis B može se poboljšati vakcinacijom početkom ili tijekom HBB-a, dupliranjem doze vakcine, davanjem dodatnih doza, kao i buster dozom s padom titra antitijela.
- Veoma je malo pacijenata koji su zahtijevali primjenu buster doze vakcine odnosno samo 5 (13,89%) od 36 pacijenata vakciniranih prema novom protokolu.
- Adjuvansi koji pojačavaju odgovor imunološkog sustava mogu biti korisni, ali još uvijek nisu široko dostupni ili se ne koriste.

### LITERATURA

1. Ribot S, Rothstein M, Goldblat M, Grasso M. Duration of hepatitis B surface antigenemia (HBs Ag) in hemodialysis patients. *Arch Intern Med* 1979; 139: 178.
2. Harnett JD, Parfrey PS, Kennedy M i sur. The long-term outcome of hepatitis B infection in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1988; 11: 210-15.
3. Oguchi H, Miyasaka M, Tokunaga S i sur. Hepatitis virus infection (HBV and HCV) in eleven Japanese hemodialysis units. *Clin Nephrol* 1992; 38: 36-9.
4. Burdick RA, Bragg-Gresham JL, Woods JD i sur. Patterns of hepatitis B prevalence and seroconversion in hemodialysis units from three continents: the DOPPS. *Kidney Int* 2003; 63: 2222-31.
5. Malik AH, Lee WM. Chronic hepatitis B virus infection: treatment strategies for the next millennium. *Ann Intern Med* 2000; 132: 723-8.
6. Minuk GY, Sun DF, Greenberg R i sur. Occult hepatitis B virus infection in a North American adult hemodialysis patient population. *Hepatology* 2004; 40: 1072-6.
7. Niu MT, Penberthy LT, Alter MJ i sur. Hemodialysis-associated hepatitis B: report of an outbreak. *Dial Transplant* 1989; 18:542-9.
8. DaRoza G, Loewen A, Djurdjev O i sur. Stage of chronic kidney disease predicts seroconversion after hepatitis B immunization: earlier is better. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 1184-8.
9. Josselson J, Kyser BA, Weir MR, Sadler JH. Hepatitis B surface antigenemia in a chronic hemodialysis program: lack of influence on morbidity and mortality. *Am J Kidney Dis* 1987; 9: 456-61.
10. Jha R, Kher V, Naik S i sur. Hepatitis B associated liver disease in dialysis patients: role of vaccination. *J Nephrol* 1993; 6: 98-103.
11. Fehr T, Ambühl PM. Chronic hepatitis virus infections in patients on renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 1049-52.
12. Girndt M, Köhler H. Hepatitis B virus infection in hemodialysis patients. *Semin Nephrol* 2002; 22: 340-3.
13. Rodby RA, Trenholme GM. Vaccination of the dialysis patient. *Semin Dial* 1991; 4: 102.
14. Dinits-Pensy M, Forrest GN, Cross AS, Hise MK. The use of vaccines in adult patients with renal disease. *Am J Kidney Dis* 2005; 46: 997-1002.
15. Kausz A, Pahari D. The value of vaccination in chronic kidney disease. *Semin Dial* 2004; 17: 9.
16. Eleftheriadis T, Antoniadi G, Liakopoulos V i sur. Disturbances of acquired immunity in hemodialysis patients. *Semin Dial* 2007; 20: 440-5.
17. Schwebke J, Mujais S. Vaccination in hemodialysis patients. *Int J Artif Organs* 1989; 12: 481.
18. Kausz AT, Gilbertson DT. Overview of vaccination in chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 2006; 13: 209-13.

19. Seaworth B, Drucker J, Starling J i sur. Hepatitis B vaccines in patients with chronic renal failure before dialysis. *J Infect Dis* 1988; 157: 332-7.

20. Dukes CS, Street AC, Starling JF, Hamilton JD. Hepatitis B vaccination and buster in predialysis patients: a 4-year analysis. *Vaccine* 1993; 11: 1229-33.

21. Moyer LA, Alter MJ, Favero MS. Hemodialysis-associated hepatitis B: Revised recommendations for serologic screening. *Semin Dial* 1990; 3: 201-6.

22. Rangel MC, Coronado VG, Euler GL, Strikas RA. Vaccine recommendations for patients on chronic dialysis. The Advisory Committee on Immunization Practices and the American Academy of Pediatrics. *Semin Dial* 2000; 13: 101-4.

23. Charest AF, Grand'Maison A, McDougall J, Goldstein MB. Evolution of naturally acquired hepatitis B immunity in the long-term hemodialysis population. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 1193-8.

24. Tsouchnikas I, Dounousi E, Xanthopoulou K i sur. Loss of hepatitis B immunity in hemodialysis patients acquired either naturally or after vaccination. *Clin Nephrol* 2007; 68: 228-31.

25. Barraclough KA, Wiggins KJ, Hawley CM i sur. Intradermal versus intramuscular hepatitis B vaccination in hemodialysis patients: a prospective open-label randomized controlled trial in nonresponders to primary vaccination. *Am J Kidney Dis* 2009; 54: 95-9.

26. Kong NC, Beran J, Kee SA i sur. A new adjuvant improves the immune response to hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2008; 73: 856-62.

27. Fabrizi F, Lunghi G, Poordad FF, Martin P. Novel perspectives on hepatitis B vaccine in dialysis population. *Int J Artif Organs* 2002; 25: 174-81.

## SUMMARY

### NEW VACCINATION PROTOCOL AGAINST HEPATITIS B FOR HEMODIALYSIS PATIENTS – A SINGLE-CENTRE EXPERIENCE

H. RESIĆ, N. KUKAVICA, F. MAŠNIĆ, N. PROHIĆ, V. ŠAHOVIĆ, S. AJANOVIĆ,  
A. ĆORIĆ, E. AVDIĆ and D. HELAĆ-CVIJETIĆ

*Clinic of Hemodialysis, Clinical Center of the University of Sarajevo, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina*

Patients with end stage renal disease (ESRD) have a reduced response to vaccination against hepatitis B infection. The aim of the study has been to determine the adequacy of immune response with new protocol of vaccination against hepatitis B infection. *Patients and methods:* The study included incident hemodialysis patients since 2008 until 2011 at the Clinic of Hemodialysis of the Clinical Center of the University of Sarajevo. We started the new vaccination protocol in September 2009. New protocol implied vaccination six months before starting renal replacement therapy (RRT) and "ic" (intracutaneously) application vaccine vs. "sc" (subcutaneously) application. Vaccination was carried out for over 12 months. The follow up period lasted from 2009 to 2011. *Results:* The study included 64 patients, men were represented with 57,81% (37), and 42,19% women (27), who were divided in two groups. The first group included patients from the period from 2008 to 2009, who have been vaccinated under the old vaccination protocol, while the second group included patients with the new protocol from September 2009 to 2011. The first group had 28 patients, mean age of patients was  $55,17 \pm 11,84$  and mean duration of hemodialysis was  $24,65 \pm 5,32$  months. The second group had 36 patients, mean age of patients was  $62,79 \pm 15,88$  years, and mean duration of hemodialysis was  $22,16 \pm 24,53$  month. Neither group of patient has been previously vaccinated, nor these had positive in serum antiHBs before vaccination in second group. Five patients received a booster dose of vaccine, after which 4 showed adequate responses to anti HbS. In the first group of patients, out of total of 28 patients, 15 patients did not respond response with the adequate anti-HbS titer at the end of vaccination. In the second group of patients, out of 36 patients 31 of them responded to the vaccination with the new protocol, which was statistically significant ( $p < 0,005$ ). The total percentage of patients with adequate titer of antiHBs after vaccination towards a new protocol was 97.43% and the percentage of patients who required booster dose of vaccines was 12.82%. *Conclusion:* Vaccination of patients in ESRD, six months before renal replacement therapy and intradermal application of vaccine vs. subcutaneously, improved immune response of our patients.

**Key words:** hemodialysis, vaccination, anti HBs, antigen, hepatitis B.