

## بررسی سطح آنتی بادی هپاتیت B (Anti HBs) متعاقب واکسیناسیون در بین دانشجویان

پزشکی بالینی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد در سال 1392-1393

فاطمه حبیبی، امیرحسین متوسلیان

### چکیده

مقدمه و هدف: واکسیناسیون هپاتیت B از جمله اقدامات مهم پیشگیرانه در دانشجویان پزشکی به عنوان یکی از اقسام پرخطر می باشد. لذا در این مطالعه به بررسی سطح آنتی بادی هپاتیت B (Anti-HBs) متعاقب واکسیناسیون در بین دانشجویان پزشکی بالینی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد در سال 1392-1393 پرداختیم.

روش مطالعه: این مطالعه به صورت یک بررسی مشاهده ای (Observational) توصیفی تحلیلی (Descriptive-analytic) مقطعی (Cross-Sectional) انجام شده است. حجم نمونه مورد بررسی که به صورت سرشماری وارد مطالعه شدند، شامل 154 نفر از دانشجویان پزشکی بالینی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد در سال 1392-1393 بود و سطح آنتی بادی هپاتیت B (Anti-HBs) متعاقب واکسیناسیون در آنها تعیین شد.

یافته ها: نتایج به دست آمده نشان داد که میانگین تیتراژ آنتی بادی 186/5 با انحراف معیار 114/9 واحد بود و 10 نفر (6/5 درصد) دچار عدم پاسخ آنتی بادی بودند. جنسیت مذکر، BMI بالاتر و مدت طولانی تر گذشته از واکسیناسیون از جمله عوامل موثر بر تیتراژ کمتر آنتی بادی در دانشجویان بودند ( $P < 0/05$ ). نتیجه گیری: در مجموع بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه و مقایسه آنها با سایر مطالعات صورت گرفته در این زمینه چنین استنباط می شود که یک نفر از هر شانزده دانشجوی پزشکی که واکسیناسیون هپاتیت B انجام می دهند، دچار عدم پاسخ آنتی بادی بودند.

-واژه های کلیدی: دانشجوی پزشکی، هپاتیت B، واکسیناسیون، پاسخ آنتی بادی

## مقدمه :

بروز بیماری های کبدی مرتبط با ویروس HBV مشکل بهداشت عمومی در سرتاسر جهان است (1). هپاتیت B بیماری خطرناکی است که اکنون در بسیاری از مناطق جهان به صورت اندمیک در آمده است و بخش زیادی از سرمایه های بهداشتی و مالی کشورهای در حال توسعه را به خود اختصاص می دهد (2). بیش از 2 میلیارد نفر در سرتاسر جهان به HBV مبتلا شده اند که 360 میلیون نفر آنها ناقل مزمن هستند (3). عفونت هپاتیت B بیشترین میزان را در کشورهای در حال توسعه بویژه آسیا و آفریقا به خود اختصاص می دهد (4). در کشور ما نزدیک به دو میلیون نفر ناقل این ویروس هستند (5).

تخمین زده می شود سهم قابل توجهی از بیماران آلوده به HBV مزمن (15-40 درصد) به طرف سیروز کبد، نارسایی کبد و HCC پیشرفت کرده اند که باعث شده HBV مزمن یکی از 10 علت اصلی مرگ و میر در سراسر جهان به شمار آید (3). HBV می تواند به صورت عمودی (از طریق تماس جنسی یا خانوار و تزریق مشکوک و پری ناتال) منتقل شود اما به طور افقی و به صورت مزمن در طی دوران جنینی و کودکی سهم بزرگی از عوارض و مرگ و میر سرتاسر جهان را به دست آورده اند (6). اگرچه اغلب عفونت ها در کشورهای در حال توسعه در دوران کودکی و اوایل بلوغ رخ می دهد، بخش قابل توجهی از بزرگسالان غیر ایمن در معرض خطر باقی می مانند (4).

کارکنان بهداشت و درمان خصوصا جراحان، پاتولوژیست ها، دندانپزشکان و پزشکان شاغل در واحد همودیالیز و انکولوژی در معرض خطر بالاتر سرایت HBV از طریق بریدگی های جزئی پوست و سوراخ سوزن تصادفی هستند. دانشجویان پزشکی نیز مستعد پذیرش عفونت HBV طی مواجهه با موارد بالینی هستند (1). از آنجاییکه درمان مناسب و کاملی برای عفونت HBV وجود ندارد، پیشگیری بسیار مهم است. واکسیناسیون HBV با استفاده از واکسن نوترکیب موثرترین و ایمن ترین راه پیشگیری مورد قبول است (4). لذا واکسیناسیون کامل HBV برای دانشجویان پزشکی قبل از آمدن به سمت بالینی به منظور به دست آوردن پاسخ ایمنی مناسب توصیه شده است (1). تزریق سه نوبت واکسن هپاتیت B که تنها از آنتی ژن سطحی هپاتیت B تشکیل یافته است، در 85 درصد افراد سالم می تواند آنتی بادی محافظت کننده ایجاد کند. عواملی که ایمنی زایی را در افراد سالم تحت تاثیر قرار می دهد عبارتند از: تعداد دفعات واکسن، زمینه های ژنتیکی، افزایش سن، وزن، مصرف سیگار و الکل (7). از آنجایی که در بعضی از افراد بعد از دریافت

واکسن ایمنی قابل قبول ایجاد نمی شود، این مسئله می تواند سلامتی آنها را تهدید کند (8). مارکرهای ویروس هپاتیت B شامل آنتی ژن سطحی هپاتیت B (HBs Ag)، آنتی بادی ضد آنتی ژن سطحی هپاتیت B (Anti HBs Ag) و آنتی بادی ضد آنتی ژن هسته ای هپاتیت B (Anti HBc Ag) می باشند (9). (شکل 1-1) تنها شاخص سرولوژیک که بعد از واکسیناسیون ظاهر می شود Anti HBs است. با توجه به کاهش مقدار Anti HBs با گذشت زمان و نیز شیوع بالای آسیب سر سوزن در بیمارستان ها که منجر به دریافت بی مورد واکسن و ایمونوگلوبولین می گردد (7)، این مطالعه با هدف تعیین تاثیر واکسیناسیون کامل هپاتیت B بر سطح سرمی Anti-HBs در دانشجویان پزشکی و تعیین فاکتورهای موثر بر عدم پاسخ ایمنی مناسب و همچنین مشخص کردن اینکه چه تعدادی پاسخ ایمنی مناسب نداشته اند انجام شده است و ارائه راهکارهای مناسب به دانشجویان جهت افزایش سطح ایمنی در برابر هپاتیت B هدف غایی آن است.

#### روش تحقیق:

این مطالعه به صورت یک بررسی مشاهده‌ای (Observational) توصیفی-تحلیلی (analytic) - (Descriptive) مقطعی (Cross-Sectional) انجام شده است. حجم نمونه مورد بررسی که به صورت سرشماری وارد مطالعه شدند و واجد شرایط بودند، شامل 154 تن از دانشجویان پزشکی بالینی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد در سال 1392-1393 بود و سطح آنتی بادی هپاتیت B (Anti-HBs) متعاقب واکسیناسیون در آنها تعیین شد.

هدف از این مطالعه برای تمام دانشجویان شرکت کننده در مطالعه توضیح داده شد. تمام دانشجویان یک پرسشنامه را که شامل تجربه علائم و نشانه های مشکوک و مشابه هپاتیت B در گذشته بود، را پر نمودند. همچنین این پرسشنامه شامل اطلاعاتی مثل سن، جنسیت، مقطع تحصیلی، BMI، مصرف سیگار، سابقه هپاتیت در اعضای خانواده، سابقه مصرف کورتون، سابقه رادیوتراپی، شیمی درمانی، لوسمی، لنفوم، انتقال خون، سابقه Needle stick، سابقه تماس جنسی مشکوک و محافظت نشده و سابقه نارسایی کلیه و کبد بودند.

ابتدا جهت آنالیز سرمی، 2 سی سی خون از هر شرکت کننده در لوله خشک جمع آوری شد. سپس نمونه ها در سانتیفریوژ قرار گرفته و سرم آنها جدا گردید. سرم های جدا شده همگی در دمای منفی 18 درجه سانتیگراد فریز شدند. برای تعیین میزان ایمنی به عفونت هپاتیت B، تیتراژ Anti-HBs توسط کیت های آزمایشگاهی

پیش‌تاز طب در پژوهشکده زکریا اندازه گیری شد. (تصویر 1)



### تصویر 1 کیت آزمایشگاهی الایزا جهت سنجش Anti HBs

ادامه مراحل انجام کار بدین شرح است :

کیت های مورد نیاز جهت مطالعه را قبل از انجام آزمایشات در یخچال در دمای 2-8 سانتیگراد نگهداری کردیم. هر کیت شامل Reagent هایی می باشد به شرح زیر (کیت های مورد استفاده جهت آزمایش 96 نمونه طراحی شده اند):

- 1) پلیت حاوی چاهک های پوشش داده شده توسط آنتی ژن های اختصاصی HBs .
- 2) محلول آنزیم کونژوگه آماده مصرف (Enzyme conjugate) : حاوی آنتی ژن HBs متصل شده به آنزیم پراکسیداز در محلول بافری حاوی پروتئین و نگهدارنده .
- 3) سری استاندارد (Standard Set): ویال های استاندارد شامل غلظت های صفر، 10، 50، 100 و 200 mIU/mL از آنتی بادی های ضد HBs کالیبره شده در برابر استاندارد WHO .
- 4) محلول رنگزا (Chromogen – Substrate): حاوی محلول رنگزای یک مرحله ای آماده مصرف .
- 5) محلول شستشو (Wash Buffer): حاوی محلول شستشوی غلیظ (X20) بوده، جهت تهیه محلول شستشوی آماده مصرف می بایست مقدار مورد نیاز را با آب مقطر به نسبت 1/20 رقیق نمود .
- 6) محلول متوقف کننده (Stop Solution): حاوی اسید کلریدریک 1 نرمال .
- 7) برچسب مخصوص پلیت

در نهایت و پس از جمع آوری اطلاعات مورد نیاز اقدام به آنالیز داده ها نمودیم که در این زمینه از نرم افزار آماری SPSS نسخه 13 استفاده نمودیم. آزمون های مورد استفاده شامل تی مستقل، ANOVA و پیرسون بودند و سطح معناداری برای تفسیر روابط بین متغیرها را 0/05 لحاظ نمودیم.

## نتایج

در این مطالعه 154 نفر در آنالیز نهایی وارد شدند که نتایج مربوطه در ادامه آمده است. در مورد متغیرهای کمی ابتدا آزمون KS انجام شد که در مورد همه متغیرها P Value بالای 0/05 بود و توزیع فراوانی پارامتریک را نشان می داد و لذا از آزمونهای تی مستقل و ANOVA و پیرسون استفاده گردید.

میانگین سنی افراد مورد مطالعه 24/19 سال (38-21) با انحراف معیار 1/8 بوده است که تعداد 27 نفر (17/5 درصد) زن و 127 نفر (82/5 درصد) مرد بوده اند.

از 154 نفر شرکت کننده در مطالعه 40 نفر در سال 86، 51 نفر در سال 87، 38 نفر در سال 88 و 25 نفر در سال 89 وارد دانشگاه شده اند.

میانگین شاخص BMI در این افراد 21/8 کیلوگرم بر متر مربع (32-14) با انحراف معیار 2/90 بوده است.

### جدول 1 - فراوانی سالهای گذشته از واکسیناسیون در افراد مورد مطالعه

مدت زمان گذشته از واکسیناسیون به سال	فراوانی	درصد
1	2	1/3
2	11	7/1
3	20	13/0
4	10	6/5
5	20	13/0
6	24	15/6
بیشتر از 6	67	43/5

100	154	مجموع
-----	-----	-------

از شرکت کنندگان در مطالعه تنها 1 نفر (0/6 درصد) سابقه سیگار کشیدن داشته و سایر شرکت کنندگان عدم سابقه استفاده از سیگار داشته اند.

میانگین سطح سرمی آنتی بادی هیپاتیت B در شرکت کنندگان 186/53 (305 – 2/245) با انحراف معیار 114/96 بوده است که 6/5 درصد از افراد بدون ایمنی، 26 درصد با ایمنی نسبی و 67/5 درصد دارای ایمنی کامل بودند.

به دلیل داشتن توزیع نرمال متغیرها، جهت مقایسه سطح سرمی آنتی بادی براساس سن و BMI افراد از تست پیرسون استفاده شد و سن ارتباطی با سطح آنتی بادی نداشت ( $P > 0/05$ )؛ اما BMI ارتباطی خطی معکوس معناداری را نشان می داد ( $P=0/020, r=-0/188$ ).

به دلیل داشتن توزیع نرمال متغیرها جهت مقایسه سطح سرمی آنتی بادی بر اساس سال ورود افراد به دانشگاه از تست ANOVA استفاده شد که ارتباطی بین سال ورود به دانشگاه و تیتراژ آنتی بادی وجود نداشت ( $P(F=1/570) > 0/05$ ).

به دلیل داشتن توزیع نرمال متغیرها، جهت مقایسه سطح آنتی بادی در دو گروه مرد و زن از تست تی در دو گروه مستقل استفاده شد و سطح آنتی بادی به میزان معناداری در خانم ها بالاتر از آقایان بود ( $P=0/032$ ) ( $t=-2/163$ ).

به دلیل داشتن توزیع نرمال متغیرها جهت مقایسه سطح سرمی آنتی بادی بر اساس مدت زمان گذشته از واکسیناسیون افراد از تست ANOVA استفاده شد و سطح آنتی بادی به میزان معناداری با افزایش سالهایی که از واکسیناسیون می گذشت، کاهش می یافت ( $P=0/041$ ) ( $F=2/259$ ).

به دلیل داشتن توزیع نرمال متغیرها، جهت مقایسه سطح سرمی آنتی بادی براساس مصرف سیگار در افراد از تست تی در دو گروه مستقل استفاده شد که مصرف سیگار ارتباطی با سطح آنتی بادی در افراد مورد بررسی نداشت و به علت کم بودن افراد سیگاری خیلی قابل استفاده نیست. ( $t=0/076$ ) ( $P > 0/05$ ).

#### بحث:

تنها شاخص سرولوژیک که بعد از واکسیناسیون ظاهر می شود Anti HBs است. با توجه به کاهش مقدار Anti HBs با گذشت زمان و نیز شیوع بالای آسیب سر سوزن کارکنان و دانشجویان در بیمارستان ها که

منجر به دریافت بی مورد واکسن و ایمونوگلوبولین می گردد (7)، این مطالعه با هدف تعیین تاثیر واکسیناسیون کامل هپاتیت B بر سطح سرمی Anti-HBs در دانشجویان پزشکی و تعیین فاکتورهای موثر بر عدم پاسخ ایمنی مناسب و همچنین مشخص کردن اینکه چه تعدادی پاسخ ایمنی مناسب نداشته اند انجام شده است و ارائه راهکارهای مناسب به دانشجویان جهت افزایش سطح ایمنی در برابر هپاتیت B هدف غایی آن بود. در این مطالعه مشخص گردید که میانگین تیترا آنتی بادی 186/5 با انحراف معیار 114/9 واحد بود و 10 نفر (6/5 درصد) دچار عدم پاسخ آنتی بادی بودند. جنسیت مذکر، BMI بالاتر و مدت طولانی تر گذشته از واکسیناسیون از جمله عوامل موثر بر تیترا کمتر آنتی بادی در دانشجویان بودند.

مطالعه ای در سال 2011 توسط زمانی و همکاران در تهران با هدف بررسی پاسخ ایمنی به واکسن هپاتیت B در HCW<sup>1</sup> صورت گرفت که از مجموع 129 نفر که بر علیه HBV واکسینه شده بودند 17/2 درصد تیترا کمتر از 10 داشتند که در حدود سه برابر میزان مشاهده شده در مطالعه ما می باشد. بر اساس نتایج مطالعه مذکور، رابطه ای بین جنس و تیترا Anti-HBs وجود نداشت؛ اما بین سن و مدت زمان گذشته از واکسن با تیترا آنتی بادی ارتباط معنی داری وجود دارد (13). در مطالعه ما بر خلاف مطالعه مذکور تیترا آنتی-HBs با سن رابطه ای نداشت؛ اما با جنسیت ارتباط معناداری نشان می داد.

مطالعه ای در سال 1387 توسط منصوری و همکاران در گیلان انجام شد که در 245 دانشجو با سابقه تزریق کامل سه دوز واکسن که تیترا anti-HBs به روش الایزا اندازه گیری شد که در 4/9 درصد پاسخ ایمنی مناسبی وجود نداشت که نسبتاً مشابه مطالعه ما می باشد. همچنین در مطالعه مذکور، مرد بودن، سابقه مصرف سیگار و فاصله زمانی بیشتر از 24 ماه از تزریق آخرین دوز واکسن با عدم پاسخ ایمنی مناسب ارتباط داشت (2) که در مطالعه ما جنسیت مذکر و مدت طولانی تر گذشته از واکسیناسیون با سطح anti-HBs ارتباط معناداری نشان می دادند.

در مطالعه دیگری در سال 1385 توسط عجمی و همکاران در مازندران مقدار HBs Ab با استفاده از روش الایزا در 193 نفر از دانشجویان به فاصله 1-2 ماه پس از تجویز سه نوبت واکسن recombinant اندازه گیری شد که سه نفر (1/6 درصد) به واکسن پاسخ ایمنی ندادند (8) که یک سوم میزان مشاهده شده در

مطالعه ما می باشد. در دانشجویان مورد مطالعه ما با فاصله بیشتری بعد از واکسیناسیون (حداقل 1 سال) سطح آنتی بادی مورد سنجش قرار گرفت ولی در آنها 1-2 ماه پس از واکسیناسیون این کار انجام شده بود. مطالعه ای در سال 2011 توسط شادکام و همکاران در یزد با هدف تخمین سطح anti-HBsAg در گروه های پرخطر واکسینه شده انجام شد و تیتراژ anti-HBs در همه نمونه ها با روش الایزا اندازه گیری شد که میزان پاسخ آنتی بادی بالای 90 درصد بود و مرد بودن با عدم پاسخ ایمنی ارتباط داشت که نتایج به دست آمده در مطالعه ما را تأیید می نماید (15).

مطالعه دیگری در سال 2008 توسط علویان و همکاران در تهران انجام شد که میزان Anti HBs با روش الایزا اندازه گیری شد و از 598 دندانپزشک شرکت کننده در مطالعه مذکور، 5/9 درصد پاسخ ایمنی نداشتند (14) که نسبتاً مشابه میزان به دست آمده در مطالعه ما در بین دانشجویان پزشکی می باشد.

#### نتیجه گیری:

در مجموع بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه و مقایسه آنها با سایر مطالعات صورت گرفته در این زمینه چنین استنباط می شود که جنسیت مذکر، BMI بالاتر و مدت طولانی تر گذشته از واکسیناسیون از جمله عوامل موثر بر تیتراژ آنتی بادی است و یک نفر از هر شانزده دانشجوی پزشکی که واکسیناسیون هپاتیت B انجام داده بودند دچار عدم پاسخ آنتی بادی بودند. البته انجام مطالعات بیشتر جهت تأیید یافته های این مطالعه پیشنهاد می شود.

#### References

1. Vinodhkumaradithyaa A, Srinivasan M, Sankarasubramanian RA, Uma A, Ananthalakshmi I, Thirumalaikolundusubramanian P, and Kanagasundaram P<sup>2</sup>. Hepatitis B Vaccination Among Medical Students. *Indian J Community Med.* 2008 January; 33(1): 67-68.
2. منصورقناعی فریبرز، فلاح محمدصادق، جوکار فرحناز، جعفرشاد ریحانه، آل اسماعیل آیدا، نعمت دوست سهیلا. ایمنی علیه هپاتیت B در دانشجویان واکسینه شده دانشگاه علوم پزشکی گیلان. بیماریهای عفونی و گرمسیری ایران. بهار 1387; 13(40): 47-51.
3. Konstantinos D. Pantazis, \* Ioannis S. Elefsiniotis, and Hero Brokalaki. New Data concerning the Epidemiology of Hepatitis B Virus Infection in Greece. *Gastroenterol Res Pract.* 2008; 580341.



4. Abdhahah K Ziraba, Josephine Bwogi, Alice Namale, Caroline W Wainaina, Harriet Mayanja-Kizza. Sero-prevalence and risk factors for hepatitis B virus infection among health care workers in a tertiary hospital in Uganda. Published online 2010 June 29. doi: [10.1186/1471-2334-10-191](https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-191)
5. حسینی آهق میرمحمد. آگاهی و عملکرد کارکنان مراکز پزشکی خلخال در ارتباط با پیشگیری از هپاتیت ب. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل. پاییز 1380; 1(1) (پیاپی 1): 1-6.
6. Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. Epidemiol Rev. 2006; 28:112-25.
7. Kazemi H, Yadegarynia D, Rashk H. The relation between hepatitis B antibody and number of hepatitis B vaccinations in the personnel of a hospital in Tehran. Pejouhesh. 2011; 35 (2) :114-118
8. عجمی ابوالقاسم، عابدیان فرشیده. ایمنی زایی واکسن هپاتیت B در دانشجویان علوم پزشکی مازندران. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. مرداد و شهریور 1385; 16(53):72-77.
9. Daw MA, Siala IM, Warfalli MM, Muftah MI. Seroepidemiology of hepatitis B virus markers among hospital health care workers. Analysis of certain potential risk factors. Saudi Med J. 2000 Dec;21(12):1157-60.
10. Andreoli TE, Carpenter CJ, Griggs Benjamin IJ. Cecil Essentials of Medicine. 7<sup>th</sup> edition. W.B.Saunders. 2007.
11. Kumar V, Robbins SL. Basic Pathology. 8<sup>th</sup> edition. W.B. Saunders. 2007.
12. Dienstag J.L. Acute Viral Hepatitis. In: Loscalzo J, Jameson J, Fauci A, Longo D, Kasper D, Hauser S. Harrison's principles of internal medicine. 18<sup>th</sup> ed. United States: MC Graw Hill; 2012. p.2537-57.
13. Zamani F, Fallahian F, Hashemi F, Shamsaei Z, Alavian S. Immune response to hepatitis B vaccine in health-care workers. Saudi J Kidney Dis Transpl. 2011;22:179-84.
14. Baghianimoghadam MH, Shadkam MN, Hadinedoushan H. Immunity to hepatitis B vaccine among health care workers. Vaccine. 2011 Mar 24;29(15):2727-9.
15. Alavian SM, Izadi M, Zare AA, Lankarani MM, Assari S, Vardi MM. Survey of the level of anti-HBs antibody titer in vaccinated Iranian general dentists. Spec Care Dentist. 2008 Nov-Dec;28(6):265-70.

## **Evaluation of the hepatitis B antibody(Anti HBs) level following of vaccination among medical students in Islamic Azad university (Mashhad branch) in 2013**

### **Abstract**

**Background:** Hepatitis B vaccination is an important preventive approach among high-risk group of medical students. Accordingly, this study was performed to determine the Anti-HBs antibody level after vaccination among medical students in clinical course in Mashhad branch of Azad University of Medical Sciences in 2013 and 2014.

**Methods and Materials:** This study was performed as an observational study with descriptive cross-sectional manner. In this study, 154 medical students in clinical course in Mashhad branch of Azad University of Medical Sciences in 2013 and 2014 were evaluated and the anti-HBs antibody was determined after vaccination.

**Results:** The results demonstrated that mean antibody titer was  $186/5 \pm 114/9$  units per ml and 10 subjects (6/5%) had no antibody response. Male gender, higher BMI, and longer time passed from vaccination were contributing factors for lower antibody titer ( $P < 0/05$ ).

**Conclusions:** Totally, according to the obtained results and comparison with other studies, it may be concluded that one out of sixteen medical students would have no antibody response after vaccination.

**Key words:** Medical Students, Hepatitis B, Vaccination, Antibody Response