

ประสิทธิผลของการฉีดวัคซีนป้องกัน โรคไวรัสตับอักเสบบีในบุคลากรของ วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล

ธันนา	บุญศิริจันทร์	พ.บ., ว.ว. อายุรศาสตร์, ว.ว. อายุรศาสตร์ทางเดินอาหาร*
ดุชนิ	ดวงมณี	พย.บ.**
เพ็ญศิริ	แก้ววกลิจ	พย.บ.**
รพีพรรณ	จันทนลาข	พย.บ.**
ศลิษา	ลีปคล้าย	พย.บ.**
บุษบา	ศุภวัฒน์ธนบดี	พย.บ., วท.ม. (ชีวสถิติ)***

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อประเมินประสิทธิผลของวัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบี การลดลงของภูมิคุ้มกัน (waning immunity) ที่เวลา 1 ปี และการตอบสนองแบบทุติยภูมิ (anamnestic response) รวมทั้งปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันต้านโรค

รูปแบบการวิจัย: การวิจัยเชิงพรรณนาแบบเก็บข้อมูลไปข้างหน้า

กลุ่มตัวอย่าง: บุคลากรของวิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาลที่ฉีดวัคซีนครบ 3 เข็ม ในช่วงปี พ.ศ. 2550-2551 จำนวน 253 ราย

วิธีดำเนินการวิจัย: เจาะเลือดกลุ่มตัวอย่างตรวจ antiHBs หลังฉีดวัคซีนครบ 2 เดือน ผู้ที่มี antiHBs < 10 มิลลิอินเตอร์ยูนิตต่อมิล. (miu/ml) จะได้รับวัคซีนอีก 1 เข็ม และตรวจวัด antiHBs หลังจากนั้น 1 เดือน ในกลุ่มที่มีระดับ antiHBs > 10 miu/ml หลังฉีดวัคซีน 3-4 ครั้ง ซึ่งหมายถึงมีการตอบสนองต่อวัคซีน (responder) จะได้รับการเจาะเลือดตรวจ antiHBs ที่ 12 เดือนต่อมา เพื่อหาอุบัติการณ์ที่ antiHBs ลดเหลือ < 10 miu/ml (waning immunity) โดยผู้ที่มีภาวะนี้จะได้รับการฉีดวัคซีนอีกหนึ่งเข็ม และตรวจวัด antiHBs หลังฉีด 1 เดือน เพื่อประเมินการตอบสนองแบบทุติยภูมิ คือมี antiHBs $\geq$ 10 miu/ml (anamnestic response)

ตัววัดที่สำคัญ: ผู้ที่ตอบสนองต่อวัคซีน การลดลงของ antiHBs และการตอบสนองแบบทุติยภูมิ

ผลการวิจัย: อัตราการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบี (responder) ร้อยละ 98.8 และ 99.6 หลังจากได้รับวัคซีนครบ 3 และ 4 เข็มตามลำดับ โดยผู้ที่จำเป็นต้องได้รับวัคซีน 4 เข็ม ทั้งหมดมีโรคอ้วน (ดัชนีมวลกายมากกว่า 25 กก./ม.²) ผู้ที่ไม่ตอบสนองต่อวัคซีน (non-responder) มี 1 ราย ซึ่งมีภาวะอ้วนมาก (ดัชนีมวลกาย 37.3 กก./ม.²) การเกิดภาวะ

* ภาควิชาอายุรศาสตร์ วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล

** หน่วยป้องกันและควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาล วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล

*** ศูนย์ส่งเสริมการวิจัย วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล

waning immunity พบร้อยละ 6.2 และโรคอ้วนเป็นปัจจัยอิสระที่มีผลต่อการเกิดภาวะ waning immunity แต่ผู้ที่มีภาวะนี้สามารถตอบสนองแบบทุติยภูมิได้ทุกรายหลังฉีดวัคซีน

สรุป: บุคลากรที่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบีครบถ้วนทั้งหมด สามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้ ผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันต่ำลงสามารถสร้างภูมิคุ้มกันแบบทุติยภูมิได้ทุกราย ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องตรวจระดับ antiHBs หลังฉีดวัคซีนครบ ยกเว้นในคนอ้วนซึ่งอาจต้องใช้วัคซีนมากกว่าคนทั่วไป

Abstract

Efficacy of Hepatitis B Vaccination in Personnels of BMA Medical College and Vajira Hospital

Rattana	Boonsirichan	MD*
Dussadee	Duangmanee	RN**
Phensiri	Klaewkasikij	RN**
Rapeepan	Chantanalage	RN**
Salisa	Suebklay	RN**
Busaba	Supawattanabodee	RN, MSc (biostatistics)***

* Department of Medicine, BMA Medical College and Vajira Hospital

** Infection Control Unit, BMA Medical College and Vajira Hospital

*** Clinical Epidemiology Unit, BMA Medical College and Vajira Hospital

Objectives: To assess the efficacy of hepatitis B vaccine, the waning immunity together with anamnestic response, and factors associated with the immune response.

Study design: Descriptive prospective study.

Subjects: A total of 253 personnels of BMA Medical College and Vajira Hospital, who had received standard 3 doses of hepatitis B vaccine during 2007–2008.

Methods: The subjects were tested for hepatitis B surface antibody (antiHBs) 2 months after complete 3 doses of vaccination. Those who had antiHBs < 10 mIU/ml were vaccinated with another dose of vaccine. Only the responders (develop antiHBs $\geq$ 10 mIU/ml after 3 or 4 doses of vaccine) were tested for antiHBs in the next 12 months to assess the incidence of waning immunity (antiHBs decline to level < 10 mIU/ml). The subjects who had waning immunity were vaccinated with another dose and then were retested for antiHBs about 1 month after revaccinated to assess the rate of anamnestic response (HBsAb > 10 mIU/ml after 1 vaccinated dose).

Main outcome measures: responders, waning immunity, anamnestic response

Results: The rate of responder was 98.8% and 99.6% after 3 and 4 doses of vaccination, respectively. All responders who needed 4 doses of vaccine were obese (body mass index: BMI > 25 kg/m²). Only one subject, who was

not response to the vaccination, had morbid obesity (BMI 37.3 kg/m²). Waning immunity was found in 6.2% of the responders. Obesity was the only independent factor associated with waning immunity. All who had waning immunity had anamnestic response.

Conclusion: Almost all of the personnels, who received complete course of Hepatitis B vaccine developed adequate protective antibody level. All who had waning immunity had anamnestic response. Hence, periodic antibody testing was not required except in the obese, who may need more doses of vaccine.

Key words: hepatitis B vaccine, responder, waning immunity, anamnestic response

บทนำ

ไวรัสตับอักเสบบีเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคตับ-อักเสบนานและเรื้อรังรวมทั้งโรคตับแข็งและมะเร็งตับ ในประชากรทั่วโลกพบว่าผู้ป่วยเสียชีวิตจากโรคตับอักเสบบีประมาณ 1 ล้านคนต่อปี¹⁻³ บุคลากรทางการแพทย์มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีมากกว่ากลุ่มประชากรทั่วไปถึง 10 เท่า⁴

จากข้อมูลทางระบาดวิทยาพบว่าร้อยละ 60 ของมะเร็งตับปฐมภูมิมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังในประเทศไทยปัจจุบันมีผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังร้อยละ 6 ของประชากร การป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีโดยการให้วัคซีนจึงเป็นการป้องกันการเกิดมะเร็งตับได้⁵

จากข้อมูลผลการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบีตั้งแต่เริ่มใช้ พบว่าวัคซีนมีประสิทธิภาพ (efficacy) สูงมาก โดยประชากรทั่วไปที่มีสุขภาพร่างกายปกติ หลังฉีดวัคซีนครบ 3 เข็มจะสามารถสร้างภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ (protective antibody) คือมีระดับ hepatitis B surface antibody (antiHBs) มากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม (miu/ml) ได้ถึงร้อยละ 90-95^{6,10,11} และภูมิคุ้มกันนี้สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ตลอดชีวิต ถึงแม้ว่าระดับของ antiHBs อาจลดลงไปเรื่อย ๆ เมื่อเวลาผ่านไปจนตรวจไม่พบ เรียกว่ามีภาวะ waning immunity^{12,13} โดยเชื่อว่าภูมิคุ้มกันนี้จะถูกเก็บอยู่ในเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocytes ร่างกายจึงยังมีความสามารถของระบบภูมิคุ้มกัน (memory lymphocyte) ที่พร้อมจะสร้างภูมิคุ้มกัน antiHBs ในระดับสูงอย่างรวดเร็วเมื่อมีการติดเชื้อใหม่หรือได้รับวัคซีน (ซึ่งมีส่วนประกอบของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี) เรียกว่ามีการตอบสนองแบบทุติยภูมิหรือ anamnestic response¹⁴ จากความรู้ในทางปฏิบัติทั่วไปจึงไม่จำเป็นต้องตรวจค่า antiHBs

หลังได้รับวัคซีนครบ หรือฉีดวัคซีนกระตุ้นเมื่อพบระดับ antiHBs ลดต่ำลง ยกเว้นในกรณีของผู้ที่มีโอกาสตอบสนองต่อวัคซีนไม่ดี หรือในกลุ่มบุคลากรที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อสูง ต้องทราบว่าภูมิคุ้มกันเกิดขึ้นหรือไม่ เช่น บุคลากรทางการแพทย์

วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล (วพบ.) ได้มีโครงการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบีให้แก่บุคลากรทางการแพทย์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544 จนถึงปัจจุบัน แต่ไม่เคยมีการประเมินอัตราการเกิดภูมิคุ้มกันของบุคลากรหลังฉีดวัคซีนครบ ดังนั้นในภายหลังเมื่อบุคลากรเหล่านี้มาตรวจเลือดแล้วไม่พบภูมิคุ้มกัน antiHBs จึงมักจะขอรับการฉีดวัคซีนใหม่ ทั้ง ๆ ที่อาจจะเป็นกลุ่มที่เคยมีภูมิคุ้มกันขึ้นแล้ว แต่มีการลดลงของภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ยังมีบุคลากรส่วนหนึ่งมีความเข้าใจว่าเมื่อระดับภูมิคุ้มกันลดลง จะต้องฉีดวัคซีนกระตุ้นเพื่อให้ภูมิคุ้มกันสูงอยู่ตลอดเวลา ทำให้เกิดการสูญเปล่าของวัคซีน

การศึกษานี้ต้องการประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนจากสัดส่วนของบุคลากรที่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันในระดับที่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ (responder) หลังฉีดวัคซีนครบ และต้องการศึกษาอัตราการเกิดภาวะการลดลงของภูมิคุ้มกันจนวัดไม่ได้ (waning immunity) ใน responder ที่เวลา 1 ปี รวมทั้งการตอบสนองแบบทุติยภูมิหลังได้รับวัคซีนกระตุ้น 1 เข็ม (anamnestic response) นอกจากนี้ได้ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจมีผลต่อการสร้างและลดลงของภูมิคุ้มกัน เพื่อใช้เป็นแนวทางในการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบีแก่บุคลากรทางการแพทย์ในอนาคต

ประชากรตัวอย่างและวิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยแบบเชิงพรรณนา แบบเก็บข้อมูลไปข้างหน้า

กลุ่มตัวอย่าง

บุคลากรของ วพบ. ที่เข้าร่วมโครงการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบีครบ 3 เข็ม ในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2551-2552 จำนวน 253 ราย

เกณฑ์การคัดเข้า

1. อายุ 18-60 ปี
2. ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบีครบ 3 เข็ม จากโครงการของหน่วยป้องกันและควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาล และได้รับวัคซีนที่ผลิตจากบริษัทเดียวกัน
3. ก่อนได้รับการฉีดวัคซีนทุกคนต้องมีผล HBsAg, antiHBs, และ antiHBc เป็นลบ ซึ่งหมายถึงไม่เคยติดเชื้อและไม่มียูนิต้านทานไวรัสตับอักเสบบีมาก่อน

เกณฑ์การคัดออก

1. ไม่ได้รับการเจาะเลือดเพื่อตรวจ antiHBs ตามกำหนด

นิยามตัวแปร

Responder หมายถึง บุคคลที่สามารถสร้างภูมิต้านทานต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระดับที่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ หลังจากการฉีดวัคซีนครบ 3-4 เข็ม คือตรวจเลือดพบค่า antiHBs ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 10 miu/ml

Non-responder หมายถึง บุคคลที่มีผลการตรวจเลือด antiHBs น้อยกว่า 10 miu/ml ในการตรวจ 1 เดือน หลังจากฉีดวัคซีนเข็มที่ 4 ซึ่งเป็นการฉีดเพิ่มหลังจากการฉีด 3 เข็มแรกครบได้ 2 เดือนแล้ว และพบว่าค่า antiHBs ยังไม่ถึง 10 miu/ml

Waning immunity หมายถึง responder ที่มีระดับ AntiHBs ลดลงจนเหลือน้อยกว่า 10 miu/ml เมื่อเวลาผ่านไป

Anamnestic response (การตอบสนองแบบทุติยภูมิ) หมายถึง responder ที่มีภาวะ waning immunity แต่เมื่อติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี หรือฉีดวัคซีนหนึ่งเข็ม ร่างกายจะสามารถสร้าง antiHBs ได้ในระดับที่มากกว่า 10 miu/ml ภายในระยะเวลา 1-4 สัปดาห์

ดัชนีมวลกาย (body mass index: BMI) หมายถึง ค่าที่คำนวณจากน้ำหนักเป็นกิโลกรัมหารด้วยความสูงเป็นเมตร ยกกำลังสอง ซึ่งแบ่งกลุ่มโดยเกณฑ์วินิจฉัยขององค์การอนามัยโลก สำหรับผู้ใหญ่ชาวเอเชีย¹⁰ ดังนี้

น้ำหนักปกติ หมายถึง ดัชนีมวลกาย 18.5-22.9 กก./ม.²

น้ำหนักเกิน หมายถึง ดัชนีมวลกายตั้งแต่ 23.0-24.9 กก./ม.²

โรคอ้วน หมายถึง ดัชนีมวลกายตั้งแต่ 25.0 กก./ม.² ขึ้นไป

วิธีดำเนินการวิจัย

หลังได้รับอนุมัติให้ทำการวิจัยจากคณะกรรมการพิจารณาและควบคุมการวิจัยในคนของกรุงเทพมหานครแล้ว ได้รวบรวมข้อมูลเบื้องต้นของกลุ่มตัวอย่าง ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูงเพื่อหาดัชนีมวลกาย และเจาะเลือดตรวจระดับของ antiHBs หลังฉีดวัคซีนครบที่ระยะเวลา 2 เดือน กลุ่มตัวอย่างที่มี antiHBs < 10 miu/ml จะได้รับวัคซีนอีก 1 เข็ม หลังจากนั้น 1 เดือน เจาะเลือดตรวจระดับ antiHBs ถ้ายังน้อยกว่า 10 miu/ml ถือว่าไม่ตอบสนองต่อการฉีดวัคซีน (non-responder)

ผู้ที่มีระดับ antiHBs ≥ 10 miu/ml (responder) จะได้รับการเจาะเลือดตรวจระดับ antiHBs อีกครั้งที่เวลา 12 เดือน เพื่อประเมินภาวะการลดลงของ antiHBs เหลือน้อยกว่า 10 miu/ml (waning immunity) โดยผู้ที่มีภาวะ waning immunity จะได้รับการฉีดวัคซีนอีก 1 เข็มทันทีที่ทราบผลเลือด และเจาะเลือดตรวจระดับของ antiHBs หลังจากนั้นอีก 1 เดือน เพื่อดูว่ามีการตอบสนองแบบทุติยภูมิหรือไม่ (anamnestic response) จากนั้นจะรวบรวมข้อมูลเพื่อประเมินประสิทธิภาพของวัคซีน และหาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลกับการสร้างภูมิต้านทาน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 11.5 การนำเสนอข้อมูลแบ่งเป็น 2 ส่วน ตามชนิดของข้อมูล ข้อมูลเชิงประมาณ ได้แก่ อายุ ดัชนีมวลกาย รายงานโดยใช่ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ข้อมูลเชิงคุณภาพ ได้แก่ เพศ ประวัติส่วนตัวผู้ป่วย ประวัติครอบครัว ผู้ที่สามารถสร้างภูมิต้านทานสำเร็จ (responder) การเกิดภาวะ waning immunity การเกิด anamnestic response และปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้องกับภาวะนี้ นำเสนอข้อมูลเป็นจำนวน ร้อยละ และเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่มโดยใช้ chi-square test หรือ Fisher's exact test โดยกำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ < 0.05

ผลการวิจัย

ข้อมูลส่วนบุคคล

บุคลากรเข้าร่วมโครงการวิจัยทั้งหมด 253 ราย เป็นชาย 51 ราย (ร้อยละ 20.2) หญิง 202 ราย (ร้อยละ 79.8) อายุเฉลี่ย 33.0 ± 9.9 ปี มีค่าดัชนีมวลกายเฉลี่ย 22.0 ± 4.3 กก./ม.² ร้อยละ 20.2 ของกลุ่มตัวอย่างมีโรคอ้วน กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่ไม่มีโรคประจำตัวใด ๆ มีเพียงร้อยละ 6.4 ที่มีโรคประจำตัว ได้แก่

ตารางที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่าง (n = 253)

ข้อมูลพื้นฐาน	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
เพศ		
ชาย	51	20.2
หญิง	202	79.8
อายุ (ปี)		
< 40	190	75.1
40-60	63	24.9
ดัชนีมวลกาย (กก./ม. ²)		
น้ำหนักปกติ (< 23.0)	170	67.2
น้ำหนักเกิน (23.0-24.9)	32	12.6
โรคอ้วน (≥ 25.0)	51	20.2
ประวัติ		
ดื่มแอลกอฮอล์	57	23.5
สูบบุหรี่	15	6.0
มีโรคประจำตัว	16	6.4
เคยฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบีมาก่อน	33	13.0
โรคตับในครอบครัว	45	17.9

โรคเบาหวาน โรคความดันเลือดสูง และร้อยละ 17.9 ของกลุ่มตัวอย่างมีบุคคลในครอบครัวเป็นโรคตับ ได้แก่โรคตับแข็ง และตับอักเสบ แต่ไม่มีคนเป็นมะเร็งตับ (ตารางที่ 1)

ประสิทธิผลของวัคซีน (efficacy)

หลังฉีดวัคซีนครบ 3 เข็ม ร้อยละ 98.8 ของกลุ่มตัวอย่างมีระดับ antiHBs มากกว่าหรือเท่ากับ 10 miu/ml ซึ่งถือเป็นกลุ่ม responder ถ้าหากผู้ที่ตรวจพบระดับ antiHBs น้อยกว่า 10 miu/ml มีเพียง 3 ราย (ร้อยละ 1.2) (บุคลากรหมายเลข 47, 155, และ 253) แต่หลังจากที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข็มหนึ่งเข็ม มีบุคลากร 2 รายที่สายทดสอบตรวจพบมีด้านทานขึ้นมาได้ ดังนั้นอัตราของผู้ที่ไม่ตอบสนองต่อวัคซีนจึงมีเพียงร้อยละ 0.4 รายละเอียดแสดงในตารางที่ 2

การเกิดภาวะ waning immunity ที่เวลา 12 เดือน
บุคลากรในกลุ่มที่ตอบสนองต่อวัคซีน (responder)

มาติดตามเจาะเลือดตรวจระดับของ antiHBs 225 ราย จาก 252 ราย (ร้อยละ 89.3) พบว่าร้อยละ 62.8 มีระดับของ antiHBs ไม่เปลี่ยนแปลง ร้อยละ 37.2 มีระดับ antiHBs ลดลง โดยร้อยละ 6.2 (14 ราย) มีระดับ antiHBs ลดลงเหลือน้อยกว่า 10 miu/ml คือมีภาวะ waning immunity

ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดภาวะ waning immunity อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก univariable analysis คือ เพศชาย อายุที่มากกว่า 40 ปี และโรคอ้วน (ตารางที่ 3) แต่เมื่อนำปัจจัยทั้ง 3 มาวิเคราะห์โดย multivariable analysis พบว่ามีเฉพาะโรคอ้วนเท่านั้นที่เป็นปัจจัยอิสระ (independent factor) ที่ส่งผลต่อการเกิดภาวะ waning immunity (ตารางที่ 4)

Responder ที่มีภาวะ waning immunity สามารถตอบสนองแบบทุติยภูมิ (anamnestic response) ได้ทุกคนโดยตรวจพบ antiHBs มากกว่าหรือเท่ากับ 10 miu/ml ภายใน 1 เดือน หลังฉีดวัคซีนกระตุ้น ไม่มีผู้ใดเกิดผลข้างเคียงรุนแรงหรือภาวะแทรกซ้อนหลังการฉีดวัคซีน

ตารางที่ 2 ข้อมูลของผู้ที่ไม่ตอบสนองหลังฉีดวัคซีน 3 เข็ม

	บุคลากร หมายเลข 47	บุคลากร หมายเลข 155	บุคลากร หมายเลข 253
เพศ	หญิง	หญิง	ชาย
อายุ (ปี)	53	44	28
ดัชนีมวลกาย (กก./ม. ²)	37.3	34.0	28.0
ดื่มแอลกอฮอล์	ไม่	ไม่	ไม่
สูบบุหรี่	ไม่	สูบ	สูบ
เคยฉีดวัคซีนไวรัสตับอักเสบบี	ไม่เคย	ไม่เคย	ไม่เคย
ระดับ antiHBs หลังได้วัคซีนเข็มที่ 4 (miu/ml)	0	13	> 509
สถานะ	Non-responder	Responder	Responder

ตารางที่ 3 ปัจจัยที่มีผลต่อภาวะ waning immunity จาก univariable analysis (n = 225)

ปัจจัย	จำนวน (ราย)	ผู้ที่มีภาวะ waning immunity		p-value*
		จำนวน (ราย)	ร้อยละ	
เพศ				0.035
ชาย	44	6	13.6	
หญิง	181	8	4.4	
อายุ (ปี)				0.001
< 40	169	5	3.0	
40-60	56	9	16.1	
ดัชนีมวลกาย (กก./ม. ²)				< 0.001
< 25	176	3	1.7	
≥ 25	49	11	22.4	
การดื่มแอลกอฮอล์				0.201
ไม่ดื่ม	175	9	5.1	
ดื่ม	50	5	10.0	
สูบบุหรี่				0.261
ไม่สูบ	209	12	5.7	
สูบ	16	2	12.5	

* p-value by Fisher's exact test

ตารางที่ 4 ปัจจัยอิสระที่มีผลต่อการเกิดภาวะ waning immunity จาก multivariable analysis

ปัจจัย*	odds ratio (95% CI)	p-value
เพศ (หญิง/ชาย)	4.9 (0.8-20.9)	0.080
อายุ (< 40 ปี/≥ 40 ปี)	3.1 (0.7-13.5)	0.123
อ้วน (ดัชนีมวลกาย < 25/≥ 25 กก./ม. ²)	10.3 (2.0-53.4)	0.005

* ปัจจัยตัวหน้าของวงเล็บ คือ ค่าอ้างอิง

95% CI = 95% confidence interval

วิจารณ์

วัคซีนชนิดที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน (yeast-derived) มีประสิทธิภาพสูงในการกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (antiHBs) โดยผู้ที่สามารถสร้าง antiHBs ที่มีระดับเท่ากับหรือมากกว่า 10 mIU/ml (protective antibody) ถือว่าพอเพียงต่อการป้องกันการติดเชื้อ เรียกว่า responder จากข้อมูลผลของวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบีในหลาย ๆ ประเทศ¹⁶ พบว่าในประชากรที่อายุน้อยกว่า 40 ปี และมีสภาพร่างกายปกติ เมื่อได้รับวัคซีนครบ 3 เข็ม จะพบการตอบสนองต่อวัคซีนหลังฉีดครบ 1-3 เดือน (primary response) ได้ถึงร้อยละ 95-99 แต่ในผู้มีอายุมากกว่า 60 ปี จะพบ primary response เพียงร้อยละ 70 อย่างไรก็ตามมีผู้ได้รับวัคซีนร้อยละ 1-5 ไม่สามารถสร้าง antiHBs หรือสร้างในระดับที่ต่ำกว่า 10 mIU/ml ในการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าบุคลากรทางการแพทย์ สามารถสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานจากการฉีดวัคซีนได้ประมาณร้อยละ 90-95^{6,16-18} เช่นเดียวกับในการศึกษานี้พบว่าบุคลากรในโครงการสามารถตอบสนองต่อการฉีดวัคซีนร้อยละ 99.6 โดยร้อยละ 98.2 สามารถสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานได้หลังฉีดวัคซีนครบ 3 เข็ม ซึ่งสูงกว่าในการศึกษาที่ผ่านมา ทั้งนี้อาจเนื่องจากค่าดัชนีมวลกายของผู้เข้าร่วมโครงการนี้ต่ำกว่าในการศึกษาก่อน ๆ ซึ่งบุคลากรที่ศึกษานี้มาจากประเทศทางยุโรปและอเมริกา และในการศึกษานี้สนับสนุนว่าโรคอ้วนน่าจะมีผลต่อการตอบสนองต่อวัคซีน คือ ในกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อการฉีดวัคซีน 3 เข็ม มีทั้งหมด 3 ราย (ร้อยละ 1.2) ซึ่งมีภาวะอ้วนทุกราย แต่เมื่อให้วัคซีนเพิ่มอีก 1 เข็ม พบว่า 2 ราย (ร้อยละ 0.8) สามารถสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานซึ่งเป็นรายที่มีดัชนีมวลกาย 26.0 กก./ม.² และ 34.0 กก./ม.² ส่วนอีก 1 รายที่ไม่ตอบสนองต่อวัคซีน พบว่ามีภาวะอ้วนมาก (morbid obesity) มีค่าดัชนีมวลกาย 37.3 กก./ม.²

เป็นที่ยอมรับว่าวัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบีมีประสิทธิภาพสูงมาก จึงไม่จำเป็นต้องตรวจ antiHBs หลังฉีดวัคซีนครบ แต่ในกรณีของผู้ที่มีโอกาสที่จะตอบสนองต่อวัคซีนได้ไม่ดึ้นัก เช่น ผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันไม่ปกติ ผู้สูงอายุ ผู้ที่มีน้ำหนักเกิน^{16,19} และผู้ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อสูง เช่น บุคลากรทางการแพทย์ จำเป็นต้องทราบแน่นอนว่ามีภูมิคุ้มกันต้านทานเกิดขึ้นหรือไม่หลังฉีดวัคซีนเข็มสุดท้ายแล้ว และเป็นที่ทราบวาระดับของ antiHBs หลังจากขึ้นสูงสุดจากการฉีดวัคซีน (primary response) มักมีแนวโน้มที่จะระดับจะลดลงเรื่อย ๆ ภายใน 6-12 เดือน ดังนั้นถ้าต้องการยืนยันว่ามีภูมิคุ้มกันโรคเกิดขึ้นแล้ว ควรจะเลือกตรวจ antiHBs ภายใน 6 เดือนหลังจากการฉีดวัคซีนเข็มสุดท้าย¹⁸ ถ้าพบมีระดับสูงกว่า 10 mIU/ml จึงเป็นการยืนยันว่ามีภูมิคุ้มกันต้านทานโรคเกิดขึ้นแล้ว (primary response) ในกรณีที่ตรวจไม่พบ antiHBs หรือพบว่ามีระดับต่ำกว่า 10 mIU/ml แสดงว่ายังไม่มีภูมิคุ้มกันต้านทาน จึงอาจฉีดวัคซีนซ้ำอีกหนึ่งถึงสองเข็ม จากการศึกษาพบว่าส่วนหนึ่งสามารถสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานขึ้นได้²⁰ เป็นที่ทราบกันดีว่าปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกันต้านทาน คือ อายุ น้ำหนักตัว การสูบบุหรี่ และสภาพร่งภูมิคุ้มกันของร่างกาย ดังเช่นผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรัง^{21,22} และผู้ป่วยโรคเอดส์^{15,19,20,22,23} ในการศึกษาที่มีอัตราของการไม่ตอบสนองต่อวัคซีน (non-responder) น้อยมาก คือ เพียงหนึ่งราย จึงไม่ได้ศึกษาถึงปัจจัยที่อาจมีผลต่อภาวะนี้ แต่พบว่าคนอ้วนมีแนวโน้มที่ต้องใช้วัคซีนมากกว่าคนที่ดัชนีมวลกายปกติ ดังเช่นในบุคลากรที่ไม่ตอบสนองเลยแม้ให้วัคซีนเพิ่มอีก 1 เข็ม พบว่ามีอายุมากกว่า 40 ปี และมีค่าดัชนีมวลกายสูงมากกว่าอีก 2 ราย ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาอื่น ๆ ที่อธิบายว่าคนอ้วนมีแนวโน้มที่จะตอบสนองการสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานได้ไม่ดีเท่ากับผู้ที่น้ำหนักตัวปกติ อาจเป็นจากคนอ้วนมีพื้นที่ผิว (surface area) มากกว่า จึงจำเป็นต้องใช้จำนวนวัคซีนมากกว่า

มีการศึกษาติดตามในประชากรกลุ่ม responder เป็นเวลา 10-18 ปี พบว่าระดับ antiHBs มีแนวโน้มลดลงโดยจะลดลงเร็วมากในหนึ่งปีแรก²⁴ หลังจากนั้นจะลดลงเรื่อย ๆ จนบางครั้งไม่สามารถตรวจพบได้ หรือตรวจวัดระดับได้ต่ำกว่า 10 mIU/ml (waning immunity) แต่อัตราการติดเชื้อและป่วยเป็นโรคไวรัสตับอักเสบบีกลับพบน้อยมาก เนื่องจากบุคคลเหล่านี้สามารถสร้างภูมิต้านทานขึ้นมาได้ในระดับสูงอย่างรวดเร็วภายหลังจากสัมผัสเชื้อ (anamnestic response) จึงเชื่อว่าภูมิต้านทานที่สร้างได้จากการฉีดวัคซีน สามารถให้การป้องกันโรคได้นานมากกว่า 10-18 ปี หรือตลอดชีวิต^{25,26} การศึกษาในประเทศอิตาลี²⁷ ติดตามกลุ่ม responder ไปประมาณ 10 ปี พบภาวะ waning immunity ได้ร้อยละ 36 ในเด็กที่ได้วัคซีนตั้งแต่แรกเกิด และร้อยละ 11 ในประชากรผู้ใหญ่ที่ได้รับวัคซีน แต่หลังจากที่ทุกคนได้รับการฉีดวัคซีนหนึ่งเข็ม (booster dose) สามารถตรวจวัดระดับของ antiHBs ได้ในระดับสูง (anamnestic response) โดยร้อยละ 97 ตรวจวัดได้ภายใน 14 วัน และทั้งหมดตรวจวัด antiHBs ได้ภายใน 1 เดือน ซึ่งการวิจัยนี้ได้ผลเช่นเดียวกัน โดยทุกรายที่มีภาวะ waning immunity สามารถตรวจพบ antiHBs ในระดับที่มากกว่า 10 mIU/ml ภายใน 1 เดือนหลังจากฉีดวัคซีนกระตุ้น เช่นเดียวกับการศึกษาในบุคลากรทางการแพทย์ชาวอิตาลีในประเทศสหรัฐอเมริกาที่มีภูมิต้านทานจากการฉีดวัคซีน²⁸ โดยติดตามไป 3-13 ปี พบว่าร้อยละ 25 มีภาวะ waning immunity และร้อยละ 100 สามารถเกิด anamnestic response ภายใน 1 เดือน นอกจากนี้ยังมีการศึกษา²⁹ พบว่า anamnestic response สามารถเกิดได้ภายใน 3-4 วัน ซึ่งกลไกการเกิดภาวะ anamnestic response มีหลักฐานการศึกษาแสดงว่า เม็ดเลือดขาวชนิด T และ B lymphocyte มีบทบาทในการสร้างภูมิต้านทาน และในประชากรที่ฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบี (passive immunity) หรือเคยติดเชื้อและเกิดภูมิต้านทานแล้ว (natural immunity) เม็ดเลือดขาวชนิด T และ B lymphocyte จะมีความจำ (immunological memory) ต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HBs antigen) ได้ตลอดชีวิต ดังนั้นแม้ว่าระดับ antiHBs ในเลือดจะลดลงจนตรวจไม่พบแล้ว แต่ร่างกายยังมีความจำของระบบคุ้มกัน (memory B, T cell) ที่พร้อมจะสร้าง antiHBs ในระดับสูงอย่างรวดเร็วเมื่อมีการติดเชื้อใหม่หรือได้รับวัคซีนกระตุ้น²⁸⁻²⁹ และเนื่องจากระยะเวลาเพาะเชื้อของไวรัสตับอักเสบบี (incubation period) อยู่ที่ 4-12 สัปดาห์ ภูมิต้านทาน antiHBs จึงไม่จำเป็นต้องมีอยู่ในกระแสเลือดตลอดเวลา เพราะ anamnestic response สามารถเกิดภายใน 1 เดือน ดังนั้นการฉีดวัคซีนกระตุ้นในผู้ที่

waning immunity จึงไม่มีความจำเป็น^{19,28,29}

ในการศึกษานี้ จากการติดตามกลุ่ม responder เป็นเวลา 1 ปี พบว่าประมาณหนึ่งในสามมีระดับ antiHBs ลดลงและเกิดภาวะ waning immunity ร้อยละ 6.2 โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเกิด waning immunity อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ เพศชาย อายุมากกว่า 40 ปี และโรคอ้วน แต่พบว่ามีเฉพาะโรคอ้วนเท่านั้นที่เป็นปัจจัยอิสระต่อการเกิด waning immunity และทุกรายที่มีภาวะ waning immunity สามารถเกิด anamnestic response ภายใน 1 เดือน หลังได้วัคซีนนัดกระตุ้น 1 เข็ม ซึ่งไม่ต่างจากการศึกษาที่ผ่านมา

จากข้อมูลนี้อาจจะใช้เป็นแนวทางการวางแผนการฉีดวัคซีนไวรัสตับอักเสบบีให้บุคลากรทางการแพทย์หรือประชากรทั่วไปที่มีสุขภาพดี อายุไม่มาก และ ไม่มีภาวะอ้วน หลังจากฉีดวัคซีนครบแล้ว ไม่จำเป็นต้องตรวจระดับ antiHBs เพราะจากข้อมูลการศึกษาประชากรกลุ่มนี้ส่วนใหญ่สามารถสร้างภูมิต้านทานได้ แต่ในบุคลากรทางการแพทย์ที่มีความเสี่ยงสูงที่จะติดเชื้อ เช่น ทำงานในห้องฉุกเฉิน ในห้องผ่าตัด หรือในกลุ่มประชากรที่อาจสร้างภูมิต้านทานได้ไม่ดี เช่น อายุมาก อ้วน และมีโรคประจำตัว เช่น โรคไตวายเรื้อรัง โรคเอดส์ จึงควรให้ตรวจยืนยันว่ามีภูมิต้านทานเกิดขึ้นหรือไม่ ซึ่งถ้าตรวจ แนะนำว่าควรตรวจภายใน 2-6 เดือนหลังฉีดวัคซีนเข็มสุดท้าย ในกรณีที่ตรวจไม่พบ antiHBs แสดงว่ายังไม่มีภูมิต้านทาน อาจฉีดวัคซีนซ้ำอีก 1-2 เข็ม ส่วนกลุ่มที่ตรวจว่ามีภูมิต้านทานต่อไวรัสตับอักเสบบีแล้ว ไม่จำเป็นต้องตรวจหาระดับ antiHBs เป็นระยะ ๆ ถึงแม้ว่าจะมีภาวะ waning immunity เกิดขึ้นก็ไม่มี ความจำเป็นต้องฉีดวัคซีนกระตุ้น เนื่องจากผลการศึกษานี้ สอดคล้องกับการศึกษาทั้งหมดที่ผ่านมา^{16,26-28} พบว่าผู้ที่มิ ภูมิต้านทานต่อไวรัสตับอักเสบบีที่มีภาวะ waning immunity ทุกรายสามารถเกิด anamnestic response ได้ภายใน 2-4 สัปดาห์หลังจากได้รับเชื้อไวรัสตับอักเสบบี โดยแสดงจากการฉีดวัคซีนกระตุ้นหนึ่งเข็ม (ในวัคซีนมีเชื้อไวรัสตับอักเสบบี)

อย่างไรก็ตามในบุคลากรที่เคยฉีดวัคซีนมาเป็นระยะเวลานานแล้ว เมื่อมาตรวจเลือดแล้วไม่พบ antiHBs จึงไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อวัคซีน หรือตอบสนองแต่ ภูมิต้านทานลดลงจนหายไป (waning immunity) บุคลากรเหล่านี้ มักจะมีภูมิต้านทานใหม่ 3 เข็ม ซึ่งเป็นการสิ้นเปลือง แต่ถ้าอ้างอิงจากผลการศึกษาที่ผ่านมา อาจฉีดวัคซีนให้ 1 เข็ม แล้วตรวจวัดระดับ antiHBs ภายใน 14-30 วัน ถ้าผู้ใดตรวจวัดได้ระดับมากกว่า 10 mIU/ml แสดงว่ามีการตอบสนองแบบภูมิต้านทาน (anamnestic response) ไม่จำเป็นต้องฉีดวัคซีนเข็มต่อไป แต่ถ้าตรวจวัดระดับได้

ต่ำกว่า 10 mIU/ml แสดงว่าอาจจะอยู่ในกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อการฉีดวัคซีนตั้งแต่ครั้งแรก บุคลากรนั้นควรได้รับการฉีดวัคซีนต่อให้ครบ 3 เข็ม และควรตรวจวัดระดับ antiHBs หลังฉีดครบภายใน 6 เดือนว่าได้รับระดับของภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันโรคได้หรือไม่

สรุป

บุคลากรทางการแพทย์ของวิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาลเกือบทั้งหมด สามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อไวรัสตับอักเสบบีหลังฉีดวัคซีนครบ โดยโรคอ้วนมีผลกระทบต่อการตอบสนองต่อวัคซีน ผู้ที่ตอบสนองต่อวัคซีนแล้ว เมื่อเวลาผ่านไปหนึ่งปี ยังคงมีภูมิคุ้มกันต่อไวรัสตับอักเสบบีอยู่ ถึงแม้ว่าส่วนน้อยจะเกิดภาวะ waning immunity แต่ทุกรายสามารถเกิดการตอบสนองแบบทุติยภูมิ (anamnestic response) ได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนส่งเสริมวิจัยทางการแพทย์ วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์ส่งเสริมการวิจัย และนายแพทย์อนันต์ นโมนัยพิบูลย์ ที่ให้คำปรึกษาและตรวจทานรายงานการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Poland GA, Jacobson RM. Prevention of hepatitis B with the hepatitis B vaccine. *N Engl J Med* 2004; 351: 2832-8.
- Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection—natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350: 1118-29.
- Bond WW, Favero MS, Petersen NJ, Gravelle CR, Ebert JW, Maynard JE. Survival of hepatitis B virus after drying and storage for one week. *Lancet* 1981; 1(8219): 550-1.
- Techasathit W, Ratanasuwan W, Sonjai A, Sangsiriwut K, Anekthananon T, Suwanagool S. Vaccination against hepatitis B virus: are Thai medical students sufficiently protected? *J Med Assoc Thai* 2005; 88: 329-34.
- Denes AE, Smith JL, Maynard JE, Doto IL, Berquist KR, Finkel AJ. Hepatitis B infection in physicians: results of a nationwide seroepidemiologic survey. *JAMA* 1978; 239: 210-2.
- Centers for disease control and prevention. Updated U.S. public health service guidelines for the management of occupational exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. *MMWR Recomm Rep* 2001; 50(RR-11): 1-52.
- Poovorawan Y, Theamboonlers A, Vimolket T, Sinlaparatsamee S, Chaiear K, Siraprapasiri T, et al. Impact of hepatitis B immunisation as part of the EPI. *Vaccine* 2000; 19: 943-9.
- Lee CY, Huang LM, Chang MH, Hsu CY, Wu SJ, Sung JL, et al. The protective efficacy of recombinant hepatitis B vaccine in newborn infants of hepatitis B e-antigen-positive-hepatitis B surface antigen carrier mothers. *Pediatr Infect Dis J* 1991; 10: 299-303.
- Chang MH, Chen CJ, Lai MS, Hsu HM, Wu TC, Kong MS, et al. Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. Taiwan Childhood Hepatoma Study Group. *N Engl J Med* 1997; 336: 1855-9.
- Kane MA. Hepatitis B control through immunization. In: Rizzetto M, Purcell RH, Gerin JL, Verme G, eds. *Viral hepatitis and liver disease*. Turin: Edizioni Minerva Medic; 1996. p.638-42.
- Hsu HM, Lu CF, Lee SC, Lin SR, Chen DS. Seroepidemiologic survey for hepatitis B virus infection in Taiwan: the effect of hepatitis B mass immunization. *J Infect Dis* 1999; 179: 367-70.

12. Yuen MF, Lim WL, Chan AO, Wong DK, Sun SS, Lai CL. 18-year follow up study of a prospective randomized trial of hepatitis B vaccinations without booster doses in children. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 941-5.
13. McMahon BJ, Bruden DL, Petersen KM, Bulkow LR, Parkinson AJ, Nainan O, et al. Antibody levels and protection after hepatitis B vaccination: results of a 15-year follow-up. *Ann Intern Med* 2005; 142: 333-41.
14. Banatvala J, Van Damme P, Oehen S. Lifelong protection against hepatitis B: the role of vaccine immunogenicity in immune memory. *Vaccine* 2000; 19: 877-85.
15. Denis F, Mounier M, Hessel L, Michel JP, Gualde N, Dubois F, et al. Hepatitis-B vaccination in the elderly. *J Infect Dis* 1984; 149: 1019.
16. Averhoff F, Mahoney F, Coleman P, Schatz G, Hurwitz E, Margolis H. Immunogenicity of hepatitis B vaccines. Implications for persons at occupational risk of hepatitis B virus infection. *Am J Prev Med* 1998; 15: 1-8.
17. Gandhoke I, Gupta S, Lal S, Khare S. Immuneresponse to recombinant hepatitis B vaccination in adults. *J Commun Dis* 2003; 35: 249-55.
18. Sabidó M, Gavalda L, Olona N, Ramon JM. Timing of hepatitis B vaccination: its effect on vaccine response in health care workers. *Vaccine* 2007; 25: 7568-72.
19. Wood RC, MacDonald KL, White KE, Hedburg CW, Hanson M, Osterholm MT. Risk factors for lack of detectable antibody following hepatitis B vaccination of Minnesota health care workers. *JAMA* 1993; 270: 2935-9.
20. ประเสริฐ เอื้อวรากุล. วัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบี. ใน: สิริฤกษ์ ทรงศิวิไล, บรรณาธิการ. วัคซีนป้องกันโรคไวรัส. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ห้างหุ้นส่วนจำกัด บางกอกบลู๊ต; 2543. หน้า 495-504.
21. Weber DJ, Rutala WA, Samsa GP, Bradshaw SE, Lemon SM. Impaired immunogenicity of hepatitis B vaccine in obese persons. *N Engl J Med* 1986; 314: 1393.
22. Bruguera M, Cremades M, Rodicio JL, Alcazar JM, Oliver A, Del Rio G, et al. Immunogenicity of a yeast-derived hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. *Am J Med* 1989; 87(3A): 30S-32S.
23. Bock HL, Kruppenbacher J, Sängler R, Höbel W, Clemens R, Jilg W. Immunogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine in adults. *Arch Intern Med* 1996; 156: 2226-31.
24. Jilg W, Schmidt M, Deinhardt F. Four-year experience with a recombinant hepatitis B vaccine. *Infection* 1989; 17: 70-6.
25. West DJ, Calandra GB. Vaccine induced immunologic memory for hepatitis B surface antigen: implications for policy on booster vaccination. *Vaccine* 1996; 14: 1019-27.
26. Jilg W, Schmidt M, Deinhardt F. Immune response to hepatitis B revaccination. *J Med Virol* 1988; 24: 377-84.
27. Zanetti AR, Mariano A, Romanò L, D'Amelio R, Chironna M, Coppola RC, et al. Long-term immunogenicity of hepatitis B vaccination and policy for booster: an Italian multicentre study. *Lancet* 2005; 366(9494): 1379-84.
28. Williams JL, Christensen CJ, McMahon BJ, Bulkow LR, Cagle HM, Mayers JS, et al. Evaluation of the response to a booster dose of hepatitis B vaccine in previously immunized healthcare workers. *Vaccine* 2001; 19: 4081-5.
29. Protection against viral hepatitis. Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 1990; 39(RR-2): 1-26.