

## ANALISI DELL'IMMUNOGENICITA' DI UN VACCINO RICOMBINANTE ANTI-EPATITE VIRALE DI TIPO B

Roberto RUSSO, Franco RIPA, Savina DITOMMASO, Carla ZOTTI e Angela MOIRAGHI RUGGENINI

Dipartimento di Igiene e Medicina di Comunità, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi, Torino

**Riassunto.** - *L'introduzione in Italia dei vaccini anti-HBV di tipo ricombinante ha permesso l'impostazione di campagne di vaccinazione sempre più ampie, per giungere alla legge sull'obbligatorietà della vaccinazione nel 1991. Se il controllo prevaccinale è divenuto superfluo a causa della riduzione del costo del vaccino, il controllo postvaccinale di antiHBs ha mantenuto la sua importanza al fine di valutare la possibilità di somministrare dosi booster e di prevedere strategie di rivaccinazione a distanza di anni. In questo studio sono stati analizzati 419 vaccinati con Engerix-B ed è stata valutata l'associazione tra alcune variabili anagrafico-comportamentali e la risposta alla vaccinazione.*

**PAROLE CHIAVE:** vaccino HBV ricombinante, immunogenicità, variabili anagrafiche, variabili comportamentali.

**Summary** (Immune response to a recombinant DNA hepatitis B vaccine). - *The introduction in Italy of recombinant DNA hepatitis B vaccines has allowed to plan out a very important programme of vaccination; in Italy the compulsory vaccination against hepatitis B virus begun from 1991. Because of the reduction of vaccine cost, the screening for serum markers of HBV infection is needless. On the contrary, the test of antiHBs titres after the vaccination is important in order to take into account a booster vaccine dose and to carry out revaccination strategies. In this study, we analyzed 419 subjects vaccinated with Engerix-B; the immune response was correlated with private and behaviour data.*

**KEY WORDS:** HBV recombinant vaccine, immune response, conditioning factors.

### Introduzione

L'introduzione del vaccino anti-epatite B di tipo ricombinante in Italia ha permesso di superare quelle che si erano rivelate le due maggiori difficoltà delle campagne di vaccinazione antiHBV. Infatti l'elevato costo delle preparazioni plasmaderivate aveva imposto la scelta di

offrire la vaccinazione a particolari categorie a maggior rischio di contrarre l'infezione. Inoltre, le non infrequenti "voci" di rischi connessi alla vaccinazione in tema di HIV o di epatite stessa, se pure assolutamente non fondate, avevano indiscutibilmente creato un "sospetto" nei confronti di questi vaccini, obbligando i coordinatori a notevoli sforzi per ottenere un'elevata accettazione della vaccinazione stessa. E' evidente che il costo del vaccino ricombinante, inferiore rispetto a quello dei plasmaderivati, ha risolto sostanzialmente il primo aspetto richiamato permettendo di adottare strategie volte ad ampi interventi preventivi di popolazione [1]. Da pochi mesi è in vigore la legge di vaccinazione obbligatoria di tutti i nuovi nati e dei dodicenni, intervento reso possibile appunto dai costi vaccinali contenuti. Inoltre, le modalità di preparazione, tra cui, principalmente, la non utilizzazione di sangue di portatori per l'isolamento dell'HBsAg, ha permesso di superare anche le residue difficoltà e, quindi, una più ampia accettazione della vaccinazione [2, 3].

In quest'ottica, il ricorso al controllo sierologico dei markers dell'infezione da HBV prima e dopo la vaccinazione ha assunto un diverso significato. In epoca di utilizzo dei plasmaderivati, lo screening prevaccinale aveva lo scopo di evitare l'uso non necessario di dosi di vaccino in soggetti già immunizzati o portatori; il confronto tra i costi di tale ricerca e il reale risparmio di cicli vaccinali, soprattutto in gruppi dove la circolazione del virus è ridotta, ha suggerito di eseguire la vaccinazione, senza alcun controllo preliminare.

Diverso è il discorso per quanto concerne il controllo postvaccinale. La necessità di valutare la risposta immunitaria al termine del ciclo vaccinale trova ragione, ad esempio, nella somministrazione di dosi booster ai non rispondenti (titolo anticorpale < 10 mU/ml) oppure agli ipo-rispondenti (titolo anticorpale tra 10 e 100 mU/ml). Inoltre, le conoscenze del livello anticorpale raggiunto rappresentano la base per i successivi interventi (strategie da adottare in caso di contatto accidentale con materiale infetto e tempi di somministrazione di dosi di richiamo [4-6]).

Lo scopo di questo lavoro è duplice: analizzare l'andamento della risposta anticorpale in soggetti trattati con il vaccino antiHBV di tipo ricombinante e l'effetto che alcune variabili anagrafiche e comportamentali possono avere nel condizionare tale risposta [7-10].

## Materiali e metodi

Quattrocentottantadue operatori sanitari, appartenenti ad alcuni ospedali piemontesi, sono stati consecutivamente reclutati nello studio per un periodo di tre mesi; tutti i partecipanti sono stati sottoposti alla ricerca dei marcatori di infezione HBsAg, antiHBs e antiHBc.

Per quelli risultati negativi alla ricerca sierologica, è stata proposta la vaccinazione antiHBV con Engerix B, secondo il calendario che prevede la somministrazione di tre dosi di cui la seconda a un mese dalla prima e la terza a cinque mesi dalla seconda. Per ogni soggetto in studio sono state raccolte le seguenti informazioni:

- sesso ed età;
- peso (espresso in kg) ed altezza (espressa in cm) da cui è stato calcolato l'indice di massa corporea ( $IMC = \text{peso} / \text{altezza}^2$ );
- abitudine al fumo negli ultimi sei mesi e durante la somministrazione del vaccino;
- consumo abituale di bevande alcoliche negli ultimi sei mesi e durante la somministrazione del vaccino.

I controlli relativi alla risposta anticorpale (titolazione antiHBs con metodo radioimmunoenzimatico - AUSAB RIA - e dosaggio quantitativo tramite curva standardizzata - AUSAB quantitation panel -) sono stati eseguiti all'atto

della somministrazione della seconda dose, dopo uno e due mesi da quest'ultima e, infine, un mese dopo la somministrazione della terza ed ultima dose.

L'associazione tra le risposte anticorpali e i fattori considerati è stata valutata attraverso il test del  $\chi^2$  corretto per la continuità e il test del  $\chi^2$  per il trend. Inoltre, limitatamente al controllo postvaccinale, l'associazione è stata analizzata con l'analisi logistica multipla in cui la variabile dipendente (assenza di risposta anticorpale = 0; presenza di risposta anticorpale = 1) è stata messa in relazione con le variabili indipendenti considerate (sesso, età, IMC, abitudine al fumo e consumo di bevande alcoliche). In tal modo è possibile ottenere per ogni variabile l'odds ratio, essendo:

$$OR = e^{\beta_i}$$

dove  $\beta_i$  è il coefficiente di regressione logistica per ogni variabile  $i$ -esima e

$$ICOR_{95\%} = \exp [\ln OR \pm (N_{1-\alpha/2} \cdot ES \ln OR)]$$

## Risultati

Al controllo sierologico prevaccinale, tre operatori sono risultati positivi per HBsAg (0.62%) e 60 per antiHBs e antiHBc (12.45%); i rimanenti 419, risultati recettivi, sono stati quindi vaccinati con Engerix-B. Tutti hanno terminato il ciclo di vaccinazione e hanno eseguito i controlli previsti dal modello dell'indagine.

La Tab. 1 riporta le caratteristiche anagrafiche e comportamentali dei vaccinati: i soggetti, prevalentemente di sesso femminile (67.30%) e di età compresa tra 27 e

Tabella 1. - Distribuzione dei soggetti vaccinati (N = 419) secondo le variabili anagrafiche e comportamentali

		N	%	
Sesso	Maschi	137	32.70	
	Femmine	282	67.30	
Età	≤ 26 anni	138	32.94	
	27-38 anni	177	42.24	
	≥ 39 anni	104	24.82	
IMC	Maschi	≤ 18.4	54	12.89
		18.5 - 24.4	239	57.11
	Femmine	19.5 - 23.4	107	25.53
		23.5 - 29.1	19	4.47
		≥ 29.2		
Abitudine al fumo	No	302	72.11	
	Si	117	27.89	
Consumo di alcol	No	333	79.42	
	Si	86	20.58	
Abitudine al fumo e consumo di alcol	No	349	83.30	
	Si	70	16.70	

N = numerosità del gruppo.

38 anni (42.24%), risultano nel 57.11% in normopeso; il 27.89% e il 20.58% riportano, rispettivamente, un'abitudine al fumo e un consumo di bevande alcoliche negli ultimi sei mesi e durante la somministrazione del vaccino; in 70 operatori (16.7%) vengono dichiarate entrambe le abitudini.

L'andamento dei soggetti che risultano positivi per antiHBs è direttamente proporzionale ai mesi trascorsi dalla prima dose e al numero di dosi somministrate (Fig. 1): al primo controllo, infatti, eseguito al momento della seconda dose, il 19.1% dei vaccinati risulta positivo per antiHBs; dopo un mese, i positivi sono il 58% e, dopo due mesi dalla seconda dose, il 77.6%. Un mese dopo la somministrazione dell'ultima dose, la proporzione di rispondenti è del 97.6%.

La distribuzione dei rispondenti ai controlli sierologici secondo il sesso (Tab. 2) mostra una differenza, non significativa, a favore del sesso femminile al primo controllo. Tale differenza, statisticamente significativa, si conferma nei controlli intermedi e al termine del ciclo (98.9% vs 94.9%).

Per quanto concerne l'effetto età (Tab. 3), a parte il controllo alla seconda dose in cui la maggior quota di rispondenti (33.7%) è di età superiore a 39 anni, nei successivi controlli si assiste ad un significativo trend, che è inversamente proporzionale alle classi di età considerate. Al controllo postvaccinale, sono positivi il 100% e il 98.9% di coloro che hanno, rispettivamente, un'età inferiore a 27 anni e un'età compresa tra 27 e 38 anni.

Anche l'IMC risulta avere un effetto sulla risposta anticorpale (Tab. 4). Dal secondo controllo in poi, la proporzione di rispondenti è maggiore nelle classi di normopeso (A e B). Al controllo postvaccinale, tutti coloro che appartengono a queste classi hanno risposto alla vaccinazione a fronte del 94.9% e del 75% delle due situazioni di sovrappeso (rispettivamente classi C e D).

L'abitudine al fumo (Tab. 5) risulta avere un importante effetto nel condizionare la risposta alla vaccinazione: i non fumatori mostrano una maggior proporzione di risponden-

ti rispetto ai fumatori in tutti i controlli eseguiti; solo al controllo postvaccinale le proporzioni nei due gruppi sono sostanzialmente sovrapponibili.

Al contrario, l'effetto del consumo alcolico (Tab. 6) è meno evidente nei primi tre controlli mentre diventa significativo in quello postvaccinale con una proporzione di rispondenti nei non bevitori (99.1%) nettamente superiore rispetto a quella nei bevitori (87%).

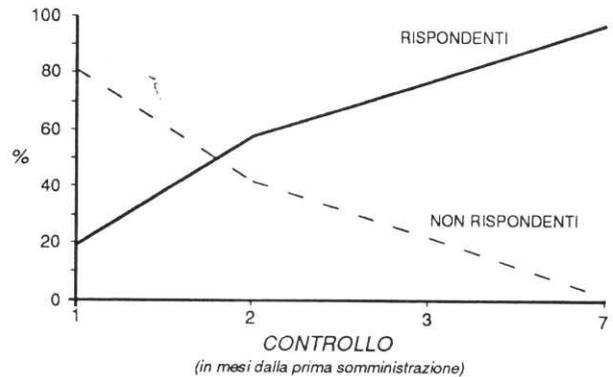


Fig. 1. - Andamento della distribuzione percentuale di rispondenti e non rispondenti ai controlli inter e postvaccinali.

Tabella 2. - Distribuzione percentuale dei rispondenti ai controlli sierologici secondo il sesso

Controllo (*)	Maschi (N=137)		Femmine (N=282)		p
	n.	%	n.	%	
1	30	21.9	61	21.6	0.949
2	72	52.6	186	66.0	0.011
3	82	59.9	236	83.7	0.001
7	130	94.9	279	98.9	0.028

(\*) in mesi dalla prima somministrazione.

N = numerosità del gruppo.

Tabella 3. - Distribuzione percentuale dei rispondenti ai controlli sierologici secondo le classi di età

Controllo (*)	≤ 26 anni (N=138)		27-38 anni (N=177)		≥ 39 anni (N=104)	
	n.	%	n.	%	n.	%
1	23	16.7	36	20.3	35	33.7
2	100	72.5	94	53.1	55	52.9
3	118	85.5	144	81.4	56	53.8
7	138	100.0	175	98.9	94	90.4

(\*) in mesi dalla prima somministrazione.

N = numerosità del gruppo.

Tabella 4. - Distribuzione percentuale dei rispondenti ai controlli sierologici secondo le classi di IMC (cfr. Tab. 1)

Controllo (*)	IMC							
	A (N = 54)		B (N = 239)		C (N = 107)		D (N = 19)	
	n.	%	n.	%	n.	%	n.	%
1	12	23.1	40	16.7	30	28.0	0	
2	36	66.7	183	76.5	51	47.8	0	
3	51	94.9	201	83.9	66	61.9	6	33.3
7	54	100.0	239	100.0	102	94.9	14	75.0

$\chi^2 = 27.760$   $p = 0.001$

(\*) in mesi dalla prima somministrazione; N = numerosità del gruppo.

La Tab. 7 riporta i risultati dell'analisi logistica multipla in termini di coefficienti di regressione, OR e intervalli di confidenza al 95%: si evidenzia che le femmine (OR=2.52), di età più giovane (OR=12.19), in condizioni di normopeso (OR=6.66), non fumatrici né bevitrice (OR=3.32), hanno un maggior probabilità di rispondere alla vaccinazione rispetto ai soggetti di sesso maschile, di età superiore, in condizioni di sovrappeso, fumatori e bevitori abituali, confermando, in tal modo, le indicazioni emerse dall'analisi univariata.

## Discussione

L'analisi dell'andamento della risposta anticorpale in soggetti vaccinati contro l'epatite B con vaccino di tipo ricombinante ha confermato l'ottima riuscita di tale preparazione che determina, al termine del ciclo vaccinale, una proporzione di rispondenti pari a circa il 98% dei vaccinati.

Inoltre, l'andamento positivo della risposta anticorpale durante i controlli eseguiti dimostra che l'effetto del vaccino persiste anche dopo la sua somministrazione: infatti, l'aumento della proporzione di rispondenti al secondo e terzo controllo dipende dalla somministrazione della seconda dose avvenuta, rispettivamente, uno e due mesi prima.

L'analisi successiva dell'associazione tra alcune variabili e la risposta anticorpale dimostra che il sesso femminile, la giovane età e la condizione di normopeso favoriscono la risposta anticorpale.

E' interessante notare che il sesso, l'età, l'IMC e il consumo di bevande alcoliche mostrano un effetto più ritardato che compare, cioè, soprattutto al termine del ciclo vaccinale. Al contrario, l'abitudine al fumo sembra avere un'azione più precoce, azione che poi scompare al termine del ciclo di vaccinazione.

L'analisi multivariata conferma queste indicazioni e permette di delineare le caratteristiche principali di un vaccinato per il quale ci si può attendere, con maggiore probabilità, una risposta positiva alla vaccinazione stessa.

Tabella 5. - Distribuzione percentuale dei rispondenti ai controlli sierologici secondo l'abitudine al fumo

Controllo (*)	No (N = 302)		Si (N = 117)		p
	n.	%	n.	%	
1	75	24.8	11	9.4	< 0.001
2	200	66.2	58	49.6	0.002
3	245	81.1	80	68.4	0.007
7	296	98.0	114	97.4	0.482

(\*) in mesi dalla prima somministrazione; N = numerosità del gruppo.

Tabella 6. - Distribuzione percentuale dei rispondenti ai controlli sierologici secondo il consumo di bevande alcoliche

Controllo (*)	No (N = 333)		Si (N=86)		p
	n.	%	n.	%	
1	59	17.8	23	27.3	0.083
2	210	63.0	54	62.5	0.937
3	262	78.6	65	75.8	0.637
7	330	99.1	75	87.0	< 0.001

(\*) in mesi dalla prima somministrazione; N = numerosità del gruppo.

Tabella 7. - Associazione tra la risposta anticorpale al controllo post-vaccinale (non rispondenti = 0; rispondenti = 1) e le variabili indipendenti considerate: risultati dell'analisi logistica multipla ( $\beta$  = coefficiente di regressione; OR = odds ratio; ICOR 95% = intervalli di confidenza al 95%)

Variabili	Modalità	$\beta$	OR	ICOR 95%
Sesso	Femmine (1)	0.9233	2.52	0.38-16.73
	Maschi (0)			
Età	≤ 26 anni (2)	2.5007	12.19	1.41-105.25
	27-38 anni (1)			
	≥ 39 anni (0)			
IMC	classi A, B (1) classi C, D (0)	1.8957	6.66	0.68-65.03
Fumo e alcol	No (1) Si (0)	1.1989	3.32	0.52-21.28

L'importanza della definizione della risposta anticorpale post-vaccinale è sottolineata dalla tendenza attuale a non eseguire i controlli post-vaccinali, privilegiando quindi l'aspetto della vaccinazione di massa. Il monitoraggio di questi soggetti vaccinati e rispondenti permetterà di de-

finire se le caratteristiche anagrafiche e le abitudini comportamentali possono intervenire anche nel mantenimento nel tempo di livelli adeguati di protezione.

Ricevuto l'8 luglio 1992.  
Accettato il 5 ottobre 1992.

#### BIBLIOGRAFIA

1. JONSSON, B. 1987. Cost-benefit analysis of hepatitis B vaccination. *Postgraduate Med. J.* **63**(2): 27-32.
2. WIEDERMANN, G., AMBROSCH, F., KREMSNER, P., KUNZ, C., HANSER, P., SIMOEN, E., ANDRE', F. & SAFARY, A. 1987. Reactogenicity and immunogenicity of different lots of a yeast-derived hepatitis B vaccine. *Postgraduate Med. J.* **63**(2): 109-112.
3. JUST, M., BERGER, R. & JUST, V. 1987. Reactogenicity and immunogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine compared with a plasma-derived vaccine in young adults. *Postgraduate Med. J.* **63**(2): 121-124.
4. BERGAMINI, F. & ZANETTI, A. 1987. Immunogenicity of yeast-derived hepatitis B vaccines in young adults. *Postgraduate Med. J.* **63**(2): 137-138.
5. DAHL-HANSEN, E., SIECBKE, J. Chr, FROLAND, S.S. & DEGRE', M. 1990. Immunogenicity of yeast-derived hepatitis B vaccine from two different procedures. *Epidemiol. Infect.* **104**: 143-149.
6. PASKO, T.M. & BEAM, T.R. 1990. Persistence of antiHBs among health care personnel immunized with hepatitis B vaccine. *Am. J. Public Health* **80**(5): 590-593.
8. WEBER, D.J., RUTALA, W.A., SAMSA, G.P., SANTIMAW, J.E. & LEMON, S.M. 1985. Obesity as a predictor of poor antibody response to hepatitis B plasma vaccine. *JAMA* **254**: 3187-3189.
9. ZOULEK, G., LORBEER, B., ZACHOVAL, R., JILG, W. & DEINHARDT, F. 1984. Smoking and humoral immune response to hepatitis B vaccine. In: *Viral hepatitis and liver disease*. G.N. Vyas, J.L. Dienstag & J.H. Hoofnagle (Eds). FL. Grune and Stratton Inc., Orlando. pp. 683-684.
10. MAC GREGOR, R.R. 1986. Alcohol and immune defense. *JAMA* **256**(11): 1474-1479.