

Результаты вакцинопрофилактики гепатита В и прогноз ее эффективности у больных, получающих лечение программным гемодиализом

М.Л. Зубкин

Государственный институт усовершенствования врачей МО РФ,
Московский городской нефрологический центр, ГКБ № 52, г. Москва

The results of vaccine prophylaxis of hepatitis B and predictors of its efficiency in HD-patients

M.L. Zubkin

Ключевые слова: гепатит В, вакцинопрофилактика, гемодиализ.

Проанализированы результаты вакцинопрофилактики гепатита В у 175 больных (96 мужчин и 79 женщин в возрасте $46,12 \pm 14,81$ года), получавших лечение программным гемодиализом. Частота сероконверсии (титр анти-НВs ≥ 10 мМЕ/мл) через 3 месяца после начала вакцинации составила 73%, а серопротекции (титр анти-НВs ≥ 100 мМЕ/мл) – 51%. К 7-му месяцу ответ на введение вакцины, достигавший уровня сероконверсии, определялся у 84%, а серопротекции – у 67% пациентов.

Для выделения прогностических признаков низкой эффективности иммунизации к 3-му (промежуточный ответ) и 7-му месяцу (окончательный ответ) изучали связи log-трансформированных титров антител к антигену вакцины (анти-НВs) с комплексом клинических, биохимических и иммунологических параметров, определяемых до начала вакцинации.

Выявлена связь интенсивности промежуточного ответа на вакцину с числом В-лимфоцитов ($p < 0,000003$) и концентрацией IgM в крови ($p < 0,00007$), а также окончательного ответа с уровнем IgM ($p < 0,02$), способностью к ингибированию миграции лейкоцитов по результатам РТМЛ с вакцинным антигеном ($p < 0,02$), концентрацией интерлейкина-2 ($p < 0,01$) и трансферрина в крови ($p < 0,002$).

Было установлено, что средние значения Kt/V, числа В- и Т-лимфоцитов в периферической крови (в том числе Т-хелперов), результат РТМЛ с антигеном вакцины, концентрации IgM, ИЛ-1 и ИЛ-2 в крови оказались статистически достоверно ниже в группе больных с отрицательным или слабым антительным ответом через 3 месяца после начала вакцинации. Напротив, уровень ЦИК у этих пациентов был выше по сравнению с больными, имевшими достаточный ответ на вакцину. В группе с отрицательным или слабым ответом на момент окончания иммунизации концентрации IgM и ИЛ-2 в крови были статистически достоверно ниже, чем в группе с достаточным ответом.

Анализ таблиц сопряженности с оценкой связи признаков по критерию χ^2 позволил со статистической достоверностью разделить больных на группы с низкой и достаточной эффективностью вакцинопрофилактики гепатита В в зависимости от подобранных границ значений исследованных параметров. Такими границами для прогноза негативного или слабого ответа к 3-му месяцу иммунизации оказались: для Т- и В-лимфоцитов крови – уровни $0,86 \times 10^9$ /л и $0,37 \times 10^9$ /л, для РТМЛ – показатель 130%, для концентраций IgA, IgM, а также трансферрина и церулоплазмينا крови – соответственно величины 2,9; 0,95; 2,8; 0,31 г/л. Границей значений для прогноза результатов вакцинации к 7-му месяцу является возраст больных, равный 60 годам, результат РТМЛ 128%, концентрации IgM, интерлейкина-2 и трансферрина крови, равные соответственно 0,82 г/л, 12,1 пмоль/мл и 2,8 г/л.

При выборе предикторов низкой эффективности вакцинопрофилактики гепатита В из множества признаков, связанных с результатами иммунизации, были отобраны те, у которых статистическая достоверность связи с титром анти-НВs сохранялась при каждом из использованных статистических методов. Концентрация IgM в крови оказалась универсальным прогностическим критерием как промежуточного, так и окончательного ответа на вакцину. В частности, предиктором слабого ответа к 3-му месяцу была концентрация IgM, равная или меньшая 0,95 г/л, а также число В-лимфоцитов в периферической крови, равное или меньшее $0,37 \times 10^9$ /л. Еще более низкие значения IgM (0,85 г/л и меньше) являются прогностическим признаком недостаточной конечной эффективности вакцинопрофилактики, так же как концентрация ИЛ-2 в крови 12,1 пмоль/моль и ниже.

*Адрес для переписки: г. Москва, ул. Пехотная, д. 3
Телефон: 196-19-53. Зубкин Михаил Леонидович*

Для прогноза низкой эффективности вакцинопрофилактики гепатита В в условиях лечения гемодиализом достаточно выявления одного из двух неблагоприятных предикторов. Наличие одновременно двух предикторов значительно повышает специфичность прогноза.

The results of vaccine prophylaxis of hepatitis B in 175 patients (96 males and 79 females, aged $46,1 \pm 14,8$ years) treated with haemodialysis were analysed. In 3 month after beginning of vaccination 75% of patients had anti-HBs level between 10 and 100 mME/ml and 51% of patients had anti-HBs level above 100 mME/ml. 7 month after the immunization these levels were detected in 84% and 67% patients, respectively.

To reveal predictors of low efficiency of immunization, log-transformed titres of antibodies after 3 months (intermediate response) and 7 months (final response) were correlated with clinical, biochemical and immunological parameters before vaccination. A strong correlation of the intermediate response was found with the number of lymphocytes ($p < 0,000005$), IgM concentration ($p < 0,019$), inhibition of leucocyte migration ($p < 0,019$), interleukine concentration ($p < 0,014$) and transferrine blood level ($p < 0,019$).

Average value of Kt/V, the numbers of B- and T-lymphocytes in blood (including T-helpers), concentrations of IgM, IL-1 and IL-2 in blood was significantly lower in patients with negative or weak intermediate response. Alternatively, all these parameters were increased in patients with a good response to vaccination. In the group of patients with negative or weak final response to immunization, the IgM and IL-2 concentrations were significantly lower than in the group with good response.

Blood level of IgM below 0,95 g/l and concentration of B-lymphocytes below $0,37 \times 10^9/l$ are the predictors of low efficiency of immunization after 3 month. IgM level below $<0,85$ g/l and IL-2 concentration under 12,1 pM predict low final efficiency of immunization.

Any of these two predictors can be used. Coexistence of both predictors makes the unfavourable prognosis more specific.

Несмотря на существенный прогресс в профилактике гепатита В, достигнутый за последние годы в центрах гемодиализа высокоразвитых стран, распространенность этой инфекции в диализной популяции государств, не способных по экономическим соображениям обеспечить в должном объеме систему санитарно-эпидемиологических мероприятий, снижается медленно и остается в большинстве из них по-прежнему достаточно высокой. В России частота носительства HBsAg среди больных, получающих лечение программным гемодиализом (ПГД), колеблется от 10 до 52% [1, 4, 6, 10–14].

Инфицирование вирусом гепатита В (HBV) пациентов в терминальной стадии хронической почечной недостаточности (ТХПН) происходит, как правило, в период лечения ПГД [43]. Однако развитие печеночных и внепеченочных осложнений HBV-инфекции ухудшает результаты лечения диализом и особенно – трансплантации почки [31, 46, 50, 59].

В настоящее время одним из наиболее эффективных методов профилактики гепатита В является вакцинация [8, 22, 38, 39, 56].

Известно, что при трехкратном назначении вакцины в стандартной дозе, обычно равной 20 мкг, 90–98% здоровых людей отвечает формированием протективного титра антител к HBsAg (анти-HBs) [15, 18, 21, 23, 26, 57, 58].

У больных с уремией вследствие свойственного им иммунодефицита [24, 30] эффективность вакцинопрофилактики гепатита В оказалась существенно ниже, несмотря на иммунизацию двойной дозой вакцины (обычно 40 мкг) при четырехкратном введении по схеме 0–1–2–6 месяцев [20].

Частота позитивного ответа на вакцинацию среди гемодиализных больных, по данным зарубежных исследователей, колеблется от 40 до 81% [16, 17, 37, 47]. В России результаты вакцинопрофилактики гепатита В у этих пациентов впервые были изучены Савиным и соавт. [9, 11]. Однако в этих исследованиях не были четко определены критерии оценки иммунного ответа. Недавно опубликованные данные Костеревой и соавт.

(2003) [5] свидетельствуют об эффективности вакцинации у 73% пациентов, получавших лечение ПГД.

В связи с тем, что эффективность стандартной схемы вакцинации против гепатита В не позволяет предотвратить инфицирование у значительного числа диализных больных, в последние годы активно изучаются альтернативные методы иммунизации. Среди них – изменение способа введения вакцины (внутрикожное вместо внутримышечного), дополнительное назначение иммуномодуляторов или цитокинов, а также применение вакцин нового поколения, в состав которых включены домены pre-S1 и pre-S2 поверхностного антигена вируса [32–34, 36, 45, 55].

Следует отметить, что в силу как медицинских, так и экономических причин эти новые подходы не могут быть применены для всей популяции больных, получающих лечение ПГД. В связи с этим необходимо уточнить показания к применению подобных методов вакцинопрофилактики гепатита В у таких пациентов при неэффективности стандартной схемы, а в ряде случаев и вместо нее.

Этот путь представляется наиболее перспективным в связи с высокими темпами заражения HBV среди пациентов ПГД, по разным причинам не вакцинированных против гепатита В или оказавшихся резистентными к стандартному методу иммунизации. Ранее нами было показано [2], что почти у половины не вакцинированных по разным причинам больных (48%) через 3–4 месяца после начала лечения ПГД выявляются клинические и/или лабораторные признаки HBV-инфекции. Следовательно, если к указанному сроку у иммунизируемых пациентов не образуется достаточное количество протективных антител, возникает угроза их заражения. В связи с этим в условиях лечения ПГД практический интерес представляет анализ не только окончательных (через 7 месяцев после начала), но и промежуточных (через 3 месяца) результатов вакцинации, а также выделение предикторов ее недостаточной эффективности. Это позволит заранее определять группу больных с ослабленным или замедленным ответом на стандартную схему иммунизации и использовать альтернативные

методы для преодоления такой резистентности.

Целью настоящего исследования было изучение результатов вакцинопрофилактики гепатита В, динамики нарастания титра протективных антител (анти-НВs) к 3-му и 7-му месяцу после начала иммунизации, а также выделение прогностических факторов ее низкой эффективности у пациентов с тХПН, получающих лечение ПГД.

Материалы и методы

В период с 1996 по 2003 гг. под нашим наблюдением были 897 больных с тХПН, по поводу которой проводилась заместительная почечная терапия в отделениях гемодиализа лечебно-профилактических учреждений Департамента здравоохранения Москвы (ГКБ № 1, ГКБ № 7, ГКБ № 20, ГКБ № 24, ГКБ № 50, ГКБ № 52, ГКБ им. С.П. Боткина, ГВВ № 2).

У 327 пациентов (36% от общей группы) отсутствовали признаки текущей или перенесенной в прошлом HBV-инфекции (результаты исследования HBsAg, анти-НВs и анти-НВсоре были отрицательными). По существующим представлениям [7, 52] они нуждались в вакцинопрофилактике гепатита В. Однако 16 из них вакцинопрофилактика не проводилась: 7 – в связи с наличием противопоказаний, 9 – по немедицинским причинам. Из 311 больных, которым была начата иммунизация, у 207 она была полностью завершена (табл. 1). У остальных 104 пациентов вакцинация была прервана по разным причинам: 23 заболели острым гепатитом В, 9 были переведены в центры трансплантации, 3 умерли от осложнений основного заболевания. 69 больных продолжают получать вакцину. У 32 из 207 пациентов на момент окончания курса вакцинопрофилактики наряду с анти-НВs обнаружили анти-НВсоре. Поскольку выявление анти-НВсоре свидетельствует о естественном контакте с HBV, эти больные были исключены из последующего анализа.

Таким образом, изучаемая группа состояла из 175 пациентов (96 мужчин и 79 женщин) в возрасте $46,12 \pm 14,81$ года. Средняя продолжительность лечения ПГД

составила у них $14,2 \pm 8,6$ месяца.

Иммунизацию проводили вакциной «Энджерикс-В» производства компании «GlaxoSmithKlein» или «Вакциной гепатита В рекомбинантной дрожжевой жидкой» ЗАО НПК «Комбиотех». 55 больных получили вакцину «Энджерикс-В» (32 мужчины и 23 женщины в возрасте $46,87 \pm 15,14$ года, средняя продолжительность лечения ПГД составила у них $15,9 \pm 7,1$ месяца) и 120 – вакцину «Комбиотех» (64 мужчины и 56 женщин в возрасте $45,31 \pm 11,27$ года, средняя продолжительность лечения ПГД – $12,8 \pm 5,1$ месяца).

Методика вакцинации была одинаковой: удвоенную дозу (40 мкг) вводили глубоко в дельтовидную мышцу по схеме 0–1–2–6 месяцев.

Для оценки эффективности вакцинопрофилактики определяли титр антител к HBsAg вакцины (анти-НВs) через 3 и 7 месяцев после ее начала. С этой целью использовали набор реагентов для количественного определения анти-НВs фирмы-компании «Roche».

В соответствии с представлениями Morgan (1995) [41], Navarro и соавт. (1996) [42], Sherlock и Dooley (1997) [52], Zuckerman и соавт. (1997) [60], Sezer и соавт. (2000) [51] и др., результаты вакцинопрофилактики гепатита В оценивали следующим образом: отрицательный ответ или неэффективность (титр анти-НВs < 10 мМЕ/мл) и позитивный ответ или сероконверсия (титр анти-НВs ≥ 10 мМЕ/мл). При этом в тех случаях сероконверсии, когда титр анти-НВs был равен или оказывался меньше 99 мМЕ/мл, ответ на вакцину считался слабым, а если титр анти-НВs равнялся или превышал 100 мМЕ/мл, то определялся как достаточный или серопротекция.

Для выявления предикторов низкой эффективности вакцинопрофилактики изучали связь ответа на вакцину с такими факторами, как пол, возраст, индекс массы тела (ИМТ) больного, характер основного заболевания, ставшего причиной развития ХПН, продолжительность лечения ПГД. Интенсивность поствакцинального ответа оценивали также в зависимости от степени адекватности гемодиализа, которую определяли по коэффициенту Kt/V и проценту снижения концентрации мочевины к концу процедуры гемодиализа. Изучалось прогностическое значение отдельных биохимических и иммунологических показателей. Для этого определяли число Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов – CD4 и Т-супрессоров – CD8, соотношение CD4/CD8, интенсивность реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) с вакциной, концентрацию основных иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM), некоторых интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-2) и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в периферической крови. Также определяли уровень альбумина, трансферрина и церулоплазмينا в плазме.

Число иммунокомпетентных клеток периферической крови определяли методом проточной цитометрии с использованием проточного цитофлюориметра EPICS XL («Coulter Corporation», USA) с моноклональными антителами фирмы «Ortho Diagnostic Systems» (США) в соответствии с инструкцией фирмы. РТМЛ проводили капиллярным методом в присутствии вакцины «Энджерикс-В» или «Комбиотех» (0,00003 мкг/мл). Концентрацию IgA, IgG и IgM в сыворотке крови определяли методом простой радиальной иммунодиффузии по Manchini (1963) с использованием тест-систем фирмы

Таблица 1

Формирование группы для анализа эффективности вакцинопрофилактики гепатита В в условиях лечения ПГД

Исследуемая группа	Число больных
Пациенты, которым была начата вакцинация	311
Пациенты, которым вакцинация не была закончена	104
– умерли	3
– перевод на трансплантацию почки	9
– появление клинических и/или лабораторных признаков HBV-инфекции до завершения курса иммунизации	23
– вакцинация продолжается	69
Пациенты с завершённым курсом вакцинации	207
Пациенты, исключённые из исследования в связи с выявлением анти-НВсоре к моменту окончания вакцинации	32
Пациенты, составившие группу для изучения эффективности вакцинопрофилактики гепатита В	175

«Полигност» (Россия) в соответствии с прилагаемыми инструкциями. Цитокины определяли в сыворотке крови с помощью твердофазового иммуоферментного анализа, а уровень ЦИК – методом преципитации в 3,5% растворе полиэтиленгликоля.

Статистическая обработка данных включала не только изучение связей отдельных показателей (определение коэффициента корреляции по Спирмену, сравнение средних величин и анализ таблиц сопряженности), но также многофакторный анализ для построения прогностического правила, которое по совокупности значений параметров, исследованных на момент начала вакцинации, позволяло бы предсказывать характер ответа к 3-му и 7-му месяцу. Для этого применили пакет компьютерных программ SPSS PC v. 7.5 для Windows'95 [44], форму порогового правила [25] и программу построения пороговых правил классификации САНД (Синдромный анализ данных), разработанную в Инсти-

туте проблем передачи информации РАН [48].

Результаты

Статистически значимых различий при иммунизации вакциной «Комбиотех» по сравнению с вакциной «Энджерикс-В» выявлено не было. В связи с этим для последующего анализа пациенты, получавшие эти вакцины, были объединены (табл. 2).

При этом частота позитивного ответа составила через 3 и 7 месяцев после начала вакцинации 73 и 84%, а доли больных с серопротективным уровнем антител – соответственно 51 и 67%.

Следует отметить, что после четвертого (последнего) введения вакцины статистически достоверно уменьшается число больных с отрицательным ответом и возрастает число пациентов, положительно ответивших на вакцину, главным образом за счет развития серопротекции. 2/3 больных с достаточным ответом или почти половина (45%) всех вакцинированных имели достаточно высокий титр анти-НВs, равный или превышавший 500 мМЕ/мл.

Применение вакцин «Энджерикс-В» и «Комбиотех» у пациентов с тХПН, получавших лечение ПГД, не сопровождалось развитием серьезных нежелательных явлений. Вакцины зарекомендовали себя как безопасные и хорошо переносимые. Побочные эффекты наблюдались лишь в единичных случаях (у 8 пациентов) только после первого введения вакцины и характеризовались преимущественно местными и кожными реакциями.

Анализ динамики продукции протективных антител (табл. 3) позволил установить, что промежуточный ответ через 3 месяца после начала вакцинации в значительной степени определяет окончательные результаты к 7-му месяцу. Несмотря на увеличение числа больных, положительно ответивших на четвертое введение вакцины, почти у половины пациентов (53%) с отрицательным ответом к 3-му месяцу титр анти-НВs, составлявший менее 10 мМЕ/мл, так и не изменился к 7-му месяцу. У 26% больных этой группы к моменту окончания вакцинопрофилактики гепатита В титр антител все же достиг уровня сероконверсии, а у 21% – серопротекции.

Среди пациентов со слабым ответом через 3 месяца после начала вакцинации к 7-му месяцу у нескольких человек (8%) титр антител даже снизился. Почти у половины больных (46%) титр анти-НВs не изменился к 7-му месяцу, а у 46% – после четвертого введения вакцины он возрос до уровня серопротекции.

Наконец, у всех пациентов с достаточным ответом к 3-му месяцу высокий уровень антител (≥ 100 мМЕ/мл) сохранялся или нарастал к моменту окончания иммунизации.

У 23 из 311 (7,4%) вакцинированных больных в течение первых 3 месяцев после начала иммунизации появились клинические и/или лабораторные признаки острого гепатита В.

Таблица 2

Результаты вакцинации против гепатита В у пациентов с тХПН, получавших лечение ПГД

Варианты иммунного ответа	Количество больных	
	через 3 мес.	через 7 мес.
Всего	175	175
Отрицательный ответ (титр анти-НВs < 10 мМЕ/мл)	47 (27%) ¹⁾	28 (16%) ²⁾
Положительный ответ (титр анти-НВs ≥ 10 мМЕ/мл), в т. ч.:	128 (73%) ³⁾	147 (84%) ⁴⁾
а) слабый ответ (сероконверсия) – титр анти-НВs от 10 до 99 мМЕ/мл	39 (22%)	30 (17%)
б) достаточно высокий ответ (серопротекция) – титр анти-НВs ≥ 100 мМЕ/мл, в т. ч.:	89 (51%) ⁵⁾	117 (67%) ⁶⁾
с титром от 100 до 499 мМЕ/мл	40 (23%)	39 (22%)
с титром от 500 до 999 мМЕ/мл	20 (11%)	31 (18%)
с титром ≥ 1000 мМЕ/мл	29 (17%) ⁷⁾	47 (27%) ⁸⁾

¹⁻²⁾ $p = 0,01$; ³⁻⁴⁾ $p = 0,01$; ⁵⁻⁶⁾ $p = 0,002$; ⁷⁻⁸⁾ $p = 0,02$.

Таблица 3

Динамика титра анти-НВs при вакцинации пациентов с тХПН в условиях лечения ПГД

Характер иммунного ответа к 3-му месяцу после начала вакцинации	Число больных	Динамика титра анти-НВs к 7-му месяцу после начала вакцинации – число больных (% от общего числа вакцинированных)
Отрицательный ответ	47	1) титр не изменился – 25 (53%) 2) титр достиг уровня сероконверсии – 12 (26%) 3) титр достиг уровня серопротекции – 10 (21%): а) от 100 до 500 – 6 б) более 500 – 4
Слабый ответ	39	1) титр снизился – 3 (8%) 2) титр не изменился – 18 (46%) 3) титр достиг уровня серопротекции – 18 (46%): а) от 100 до 500 – 13 б) более 500 – 5
Достаточно высокий ответ (серопротекция)	89	титр не изменился или нарастал – 89 (100%): а) от 100 до 500 – 20 б) более 500 – 69

Кроме того, у 32 (10,3%) пациентов с отрицательным ответом на вакцину к 3-му месяцу в последующем были выявлены анти-НВс_{оге}, являющиеся маркером естественного заражения вирусом. Еще у 2 человек со слабым ответом на вакцинацию (титр анти-НВс к 7-му месяцу составлял 38 и 48 мМЕ/мл) в течение одного месяца после ее завершения развился острый гепатит В. Последние два наблюдения свидетельствуют о возможности инфицирования НВВ после вакцинации, если антительный ответ не достигает уровня серопротекции.

Высокая частота и скорость инфицирования НВВ у больных на гемодиализе при неэффективности вакцинопрофилактики гепатита В, возможность заражения и быстрое исчезновение антител из крови при их уровне ниже 100 мМЕ/мл [3] определяют актуальность выделения прогностических критериев низкой эффективности иммунизации в условиях лечения ПГД не только к 7-му, но и к 3-му месяцу после ее начала. Выявление таких предикторов станет основанием для своевременной замены стандартной схемы вакцинации на альтернативные, что способствовало бы снижению заболеваемости гепатитом В больных с тХПН.

Для выделения прогностических критериев вакцинопрофилактики гепатита В первоначально определяли коэффициент корреляции некоторых клинических, биохимических и иммунологических параметров, исследованных на момент начала иммунизации, с log-трансформированными значениями

титра анти-НВс к 3-му и 7-му месяцам после первого введения вакцины (табл. 4).

Удалось выявить связь интенсивности промежуточного ответа на вакцину с числом В-лимфоцитов ($p < 0,000003$) и концентрацией IgM в крови ($p < 0,00007$), а также окончательных результатов иммунизации с эффектом РТМА ($p < 0,02$), уровнем IgM ($p < 0,02$), концентрацией ИЛ-2 ($p < 0,01$) и трансферрина в крови ($p < 0,02$).

На втором этапе исследования сравнили средние величины анализируемых признаков в зависимости от величин титра анти-НВс к 3-му и 7-му месяцам после начала иммунизации (табл. 5). Первую группу составили пациенты с отрицательным или слабым ответом на вакцинацию (титр анти-НВс < 100 МЕ/л), вторую – лица с достаточным уровнем антительного ответа (титр анти-НВс ≥ 100).

Результаты сравнения свидетельствовали о том, что показатель Kt/V, число В- и Т-лимфоцитов в периферической крови, в том числе уровень Т-хелперов, способностей к торможению миграции лейкоцитов, концентрации IgM, ИЛ-1 и ИЛ-2 через 3 месяца после начала вакцинации были статистически значимо ниже в группе пациентов с отрицательным или слабым антительным ответом. Напротив, уровень ЦИК у этих больных оказался выше по сравнению с больными, имевшими достаточный ответ на вакцину.

На момент окончания вакцинации в группе больных

Таблица 4

Связь исследованных параметров с величиной титра анти-НВс через 3 и 7 месяцев после начала вакцинации

Исследованные параметры	Число наблюдений	Среднее значение	Стандартное отклонение	Коэффициент корреляции по Спирмену	Уровень значимости для коэффициента корреляции
Через 3 месяца					
В-лимфоциты ($10^9/л$)	61	0,39	0,05	0,56	0,000003
IgM (г/л)	61	1,0	0,23	0,49	0,00007
Через 7 месяцев					
РТМА с вакциной (%)	61	127,63	21,81	-0,36	0,02
IgM (г/л)	61	1,0	0,23	0,35	0,02
ИЛ-2 (пмоль/мл)	61	14,43	2,71	0,37	0,01
Трансферрин (г/л)	61	2,70	0,29	-0,36	0,02

Таблица 5

Средние величины некоторых исследованных параметров в зависимости от характера иммунного ответа к 3-му и 7-му месяцам после начала вакцинации

Исследованные параметры	Группа больных с титром анти-НВс < 100 мМЕ/мл			Группа больных с титром анти-НВс ≥ 100 мМЕ/мл			t-критерий Стьюдента	Уровень значимости различий средних значений
	число наблюдений	среднее значение	ошибка средней	число наблюдений	среднее значение	ошибка средней		
Через 3 месяца								
Коэффициент Kt/V	86	1,34	0,02	89	1,51	0,02	-3,36	0,02
Т-лимфоциты ($10^9/л$)	35	0,85	0,02	26	0,94	0,03	-2,60	0,01
В-лимфоциты ($10^9/л$)	35	0,35	0,001	26	0,41	0,01	-5,0	0,00005
Т-хелперы (CD4) ($10^9/л$)	35	0,42	0,01	26	0,47	0,02	-2,07	0,04
РТМА с вакциной (%)	33	133,42	3,61	22	120,95	5,05	2,06	0,04
IgM (г/л)	35	0,85	0,03	26	1,09	0,05	-4,40	0,00007
ИЛ-1 (пмоль/мл)	35	2,85	0,10	26	3,19	0,14	-2,0	0,049
ИЛ-2 (пмоль/мл)	35	13,58	0,32	26	15,52	0,65	-2,90	0,005
ЦИК (опт. ед.)	35	72,89	1,12	26	68,54	1,74	2,19	0,03
Через 7 месяцев								
IgM (г/л)	15	0,86	0,05	28	1,03	0,05	-2,36	0,02
ИЛ-2 (пмоль/мл)	15	13,51	0,73	28	15,52	0,55	-2,17	0,04

Границы значений параметров, связанных с характером ответа через 3 месяца после начала вакцинации

Исследованные параметры	Значение границы	Количество больных с титром анти-НВs < 100 мМЕ/мл	Количество больных с титром анти-НВs ≥ 100 мМЕ/мл	Критерий χ^2	Уровень значимости различий
Т-лимфоциты (10^9 /л)	≤0,86	21	7	6,57	0,01
	>0,86	14	19		
В-лимфоциты (10^9 /л)	≤0,37	27	7	15,25	0,0001
	>0,37	8	19		
РТМЛ с вакциной (%)	≤130	12	21	11,63	0,003
	>130	21	5		
IgA (г/л)	≤2,9	26	25	5,21	0,02
	>2,9	9	1		
IgM (г/л)	≤0,95	28	6	19,59	0,00001
	>0,95	7	20		
Церулоплазмин (г/л)	≤0,31	13	2	6,11	0,01
	>0,31	20	20		

Границы значений параметров, связанных с характером ответа к моменту окончания вакцинации

Исследованные параметры	Значение границы	Количество больных с титром анти-НВs < 100 мМЕ/мл	Количество больных с титром анти-НВs ≥ 100 мМЕ/мл	Критерий χ^2	Уровень значимости различий
Возраст	≤60	41	99	6,14	0,01
	>60	18	17		
РТМЛ с вакциной (%)	≤128	4	18	5,53	0,02
	>128	11	10		
IgM (г/л)	≤0,82	10	7	7,09	0,008
	>0,82	5	21		
Интерлейкин-2 (пмоль/мл)	≤12,1	7	1	11,98	0,0005
	>12,1	8	27		
Трансферрин (г/л)	≤2,8	6	24	9,68	0,002
	>2,8	9	4		

с отрицательным или слабым ответом концентрации IgM и ИЛ-2 в крови были статистически достоверно ниже, чем в группе с достаточным ответом.

На заключительном этапе исследования были выбраны пороговые величины параметров для разделения больных по определенному признаку на две группы. При помощи анализа связи параметров по критерию χ^2 оценили прогностическое значение признака, а именно – позволяет ли выбранная граница со статистической достоверностью разделить больных в зависимости от характера ответа на вакцину через 3 и 7 месяцев после начала иммунизации. Результаты представлены в табл. 6 и 7.

Границы представленных лабораторных параметров позволяют со статистической достоверностью разделить больных на группы с отрицательным или ослабленным ответом и достаточным ответом к 3-му месяцу после начала вакцинации. Такие границы для Т- и В-лимфоцитов крови составляют соответственно $0,86 \times 10^9$ /л и $0,37 \times 10^9$ /л, для РТМЛ – 130%, для концентраций IgA, IgM, а также трансферрина и церулоплазмينا крови – соответственно 2,9; 0,95; 2,8 и 0,31 г/л. При анализе других изучаемых показателей подобные границы обнаружить не удалось.

Были также установлены границы значений признаков, позволяющих со статистической достоверностью разделить больных на группы с отрицательным или слабым и достаточным ответом к моменту окончания

вакцинопрофилактики гепатита В. Такой границей является возраст больных, равный 60 годам, результат РТМЛ 128%, концентрации IgM, ИЛ-2 и трансферрина крови, равные соответственно 0,82 г/л, 12,1 пмоль/л и 2,8 г/л.

Для выделения предикторов недостаточной эффективности вакцинопрофилактики гепатита В в условиях лечения ПГД из множества признаков, связанных с результатами вакцинопрофилактики гепатита В, отобрали те, у которых статистическая достоверность связи с титром анти-НВs подтверждалась каждым из использованных статистических методов. В частности, прогностическими критериями низкой эффективности иммунизации к 3-му месяцу является число В-лимфоцитов в периферической крови и концентрация IgM, а к 7-му месяцу – концентрации IgM и ИЛ-2 в крови. При этом IgM является универсальным предиктором, поскольку связан как с промежуточными, так и с окончательными результатами вакцинации.

Выбранные прогностические факторы имели границу благоприятных и неблагоприятных значений, связанных с результатами вакцинации. Неблагоприятными значениями считали такое количество В-лимфоцитов, концентрации IgM и ИЛ-2 перед началом вакцинации, при которых к 3-му и 7-му месяцу статистически достоверно чаще противовирусный иммунитет не формировался или определялся слабый антителыный ответ (табл. 8 и 9).

Таблица 8

Оценка промежуточного результата вакцинации по пороговому значению некоторых показателей

Предикторы ответа на вакцинацию	Диапазоны значений	Прогноз
В-лимфоциты (10 ⁹ /л)	≤0,37	Неблагоприятный
	>0,37	Благоприятный
IgM (г/л)	≤0,95	Неблагоприятный
	>0,95	Благоприятный

Таблица 9

Оценка окончательного результата вакцинации по пороговому значению некоторых показателей

Предикторы ответа на вакцинацию	Диапазоны значений	Прогноз
IgM (г/л)	≤0,82	Неблагоприятный
	>0,82	Благоприятный
ИЛ-2 (пмоль/мл)	≤12,1	Неблагоприятный
	>12,1	Благоприятный

Таблица 10

Выбор порога принятия решения для прогноза эффективности вакцинации к 3-му месяцу

Количество неблагоприятных признаков	Чувствительность	Специфичность
1	91,4%	76,9%
2	77,1%	80,8%

Таблица 11

Выбор порога принятия решения для прогноза эффективности вакцинации к 7-му месяцу

Количество неблагоприятных признаков	Чувствительность	Специфичность
1	86,7%	75%
2	20%	96%

Таким образом, концентрация IgM в крови перед началом иммунизации 0,95 г/л или меньше является предиктором отрицательного или слабого ответа к 3-му месяцу вакцинации, а еще более низкие ее значения (0,85 г/л и меньше) связаны с недостаточной эффективностью вакцинопрофилактики к 7-му месяцу. Количество В-лимфоцитов в периферической крови, равное или меньшее $0,37 \times 10^9/\text{л}$, – прогностический признак недостаточного промежуточного ответа на вакцину, тогда как уровень ИЛ-2 $\leq 12,1$ пмоль/мл, как правило, связан с отрицательным или слабым результатом к концу иммунизации.

Минимальное количество предикторов, достаточное для прогнозирования, принято определять как порог принятия решения. Для прогноза низкой эффективности вакцинопрофилактики гепатита В в условиях лечения ПГД как к 3-му, так и к 7-му месяцу такой порог оказался равным одному признаку. Выявление одного из двух неблагоприятных признаков обеспечивает оптимальные значения чувствительности и специфичности прогностического правила (табл. 10 и 11). Наличие двух предикторов значительно повышает специфичность прогноза, однако при этом снижается его чувствительность. Это связано с тем, что одновременно у

одного больного достаточно редко определяются оба предиктора неблагоприятного результата вакцинации.

Обоснованность показателей чувствительности и специфичности предикторов низкой эффективности вакцинации против гепатита В к 3-му и 7-му месяцу представлена в табл. 12 и 13.

Таким образом, чувствительность рекомендуемого правила прогнозирования отрицательных или слабых результатов вакцинопрофилактики гепатита В у гемодиализных больных к 3-му месяцу после ее начала составляет 91,4%, к 7-му месяцу – 86,7%; специфичность к 3-му месяцу – 76,9%, к 7-му месяцу – 75%.

Обсуждение

Полученные нами результаты подтвердили существующие представления о более низкой эффективности вакцинации больных с тХПН в условиях лечения ПГД по сравнению со здоровыми людьми. В то же время они оказались даже лучше опубликованных ранее. Частота позитивного ответа после завершения вакцинации составила, по нашим наблюдениям, 84%, а доля больных с серопротективным уровнем антител – 67%. Наиболее близкими к нашим оказались данные Bergia и соавт. (1992) [17]. Частота положительного ответа у пациентов в их группе достигала 81%, а частота серопротекции – 65%. Хотя имеются сообщения о крайне неудовлетворительных итогах вакцинопрофилактики гепатита В в условиях лечения ПГД (в сообщении Abbas и соавт. (1999) лишь 40% больных ответило на вакцину) [16], в большинстве исследований на эту тему диапазон позитивных ответов составил 67–77%. Маловероятно, что положительные результаты, полученные в нашем

Таблица 12

Чувствительность и специфичность прогностического правила к 3-му месяцу

Результаты вакцинации	Количество пациентов			Оценка прогноза
	прогноз по пороговому правилу верный	ошибка прогноза	всего	
Титр анти-НВs <100 мМЕ/мл	32	3	35	Чувствительность 91,4%
Титр анти-НВs ≥100 мМЕ/мл	20	6	26	Специфичность 76,9%

Таблица 13

Чувствительность и специфичность прогностического правила к 7-му месяцу

Результаты вакцинации	Количество пациентов			Оценка прогноза
	прогноз по пороговому правилу верный	ошибка прогноза	всего	
Титр анти-НВs <100 мМЕ/мл	13	2	15	Чувствительность 86,7%
Титр анти-НВs ≥100 мМЕ/мл	21	7	28	Специфичность 75,0%

исследованиях, связаны с особенностью использованных вакцин. Во-первых, вакцина «Энджерикс-В» относится к наиболее широко применяемым в мире, а во-вторых, схожую интенсивность ответа мы наблюдали у пациентов, получавших вакцину «Комбиотех». Возможно, различия связаны с недостаточной репрезентативностью исследований зарубежных коллег; в большинстве из которых число наблюдений редко превышало 100, или особенностями иммунореактивности нашей выборки.

Проведенный анализ позволил установить, что более чем у четверти больных с тХПН в условиях лечения ПГД к 3-му месяцу после начала вакцинации отсутствуют протективные антитела, и еще почти столько же пациентов имеют слабый ответ на вакцину. Более того, последнее четвертое введение вакцины, хотя и улучшало окончательные результаты иммунизации, оставалось малоэффективным почти у половины этих больных. Как было показано нами ранее [1] и подтверждено настоящим исследованием, значительная часть пациентов на гемодиализе инфицируется HBV уже к 3–4-му месяцу лечения. Это определяет необходимость изучения предикторов не только окончательных, но и промежуточных результатов иммунизации для выработки новых, более избирательных подходов к вакцинопрофилактике гепатита В у этой категории больных. В частности, лицам с прогнозируемой низкой эффективностью вакцинации к 3-му месяцу представляется целесообразным одновременно с началом иммунизации назначать специфический иммуноглобулин против гепатита В, а при прогнозе отрицательного или слабого ответа к 7-му месяцу – использовать иммуномодулирующие препараты или внутрикожный способ введения вакцины. В литературе имеются сообщения об обнадеживающих результатах и хорошей переносимости применявшегося с этой целью колониестимулирующего фактора гранулоцитов/макрофагов [33, 35]. Также широко обсуждается использование внутрикожной иммунизации [45, 49].

С помощью комплекса статистических методов удалось выявить связь отдельных клинических, но главным образом лабораторных параметров с результатами вакцинации к 3-му и 7-му месяцам. Среди таких факторов, связанных с титром анти-НВs к 3-му месяцу после начала иммунизации, оказались индекс адекватности гемодиализа Kt/V, количество В- и Т-лимфоцитов, в частности Т-хелперов (CD4) в периферической крови, результаты РТМЛ, уровень IgM, ИЛ-1, ИЛ-2 и ЦИК в крови. К 7-му месяцу была выявлена связь с возрастом больного, результатом РТМЛ, уровнями IgM, ИЛ-2 и трансферрина крови.

Неблагоприятное влияние возраста на результаты вакцинопрофилактики гепатита В при уремии показали также Bergia и соавт. (1992) [17], Lombardi и соавт. (1992) [40], Sezer и соавт. (2000) [51] и другие. Как и в нашем исследовании, Sezer и соавт. (2000) [51] не удалось выявить закономерностей в соотношениях эффективности иммунизации с концентрацией альбумина в плазме и сопутствующим инфицированием HCV. Напротив, Navarro и соавт. (1996) [42] полагают, что у лиц с анти-HCV ответ на вакцину ослаблен, но подтверждают отсутствие прогностической роли альбумина. В то же время из публикации Fernandez и соавт. (1996) [29] следу-

ет, что интенсивность антительного ответа на вакцину была выше в группе пациентов с концентрацией альбумина в плазме от 4,5 до 5,0 г/л по сравнению с группой, в которой уровень альбумина составлял 3,0–3,5 г/л.

Bergia и соавт. (1992) [17], Sezer и соавт. (2000) [51] имели лучшие показатели вакцинации против гепатита В у женщин по сравнению с мужчинами. Это заключение не нашло подтверждения в нашем исследовании и в выводах Lombardi и соавт. (1992) [40]. Так же, как и мы, эти авторы не обнаружили связи ИМТ и ответа на вакцину.

Наши данные согласуются с результатами Sunder-Plassmann и соавт. (1992) [54], свидетельствующими об отсутствии связи характера заболевания почек, ставшего причиной развития тХПН, с результатами иммунизации больных в условиях лечения ПГД.

Связь между интенсивностью ответа на вакцину и клетками периферической крови на очень маленькой выборке из 18 гемодиализных больных была обнаружена Fanelli и соавт. (1992) [28]. У пациентов, не ответивших на иммунизацию, авторы определили более высокий уровень лейкоцитов и моноцитов и сниженное число лимфоцитов CD3 и CD4. В нашей работе также удалось показать связь В- и Т-лимфоцитов, отдельно Т-хелперов (CD4), однако не с окончательными, а с промежуточными результатами вакцинации. Мы не смогли подтвердить значимую роль IgG в регуляции поствакцинального ответа, что совпадает с результатами Fanelli и соавт. (1992) [28].

При помощи компьютерной программы SPSS PC v. 7.5 для Windows'95 для каждого из исследованных нами признаков подбиралась определенная граница значений, позволяющая разделить больных на группы в зависимости от силы ответа на вакцину. Из множества таких признаков, связанных с результатами вакцинопрофилактики гепатита В, отобрали только те, у которых статистическая достоверность связи с титром анти-НВs подтверждалась всеми использованными статистическими методами. В результате в качестве предикторов низкой эффективности иммунизации к 3-му месяцу оказались число В-лимфоцитов в периферической крови $\leq 0,37 \times 10^9/\text{л}$ и концентрация в крови IgM $\leq 0,95 \text{ г/л}$, а к 7-му месяцу – концентрации IgM $\leq 0,85 \text{ г/л}$ и ИЛ-2 $\leq 12,1 \text{ пкмоль/л}$.

Универсальным предиктором, определяющим силу ответа на вакцину как к 3-му, так и к 7-му месяцу, оказался IgM, который, согласно экспериментальным данным Voes и соавт. (1998) [19] и Ehrenstein и соавт. (1998) [27], играет важную роль в последующем формировании антител класса IgG. Значение ИЛ-2 в развитии ответа на вакцину против гепатита В у гемодиализных больных также показали Stachowski и соавт. (1994) [53]. Выявленные нами закономерности, по-видимому, имеют биологическую основу и отражают степень иммунодефицита, характерного для уремии, что в конечном счете определяет ответ на вакцинацию.

Порог принятия решения для прогностического правила в отношении низкой эффективности вакцинации против гепатита В в условиях лечения ПГД как к 3-му, так и к 7-му месяцу оказался равным одному признаку, поскольку при этом обеспечиваются оптимальные значения чувствительности и специфичности.

Таким образом, в результате проведенного исследо-

вания удалось установить прогностические признаки и границы их значений для заблаговременного выявления отрицательного или слабого ответа на вакцину против гепатита В у больных с тХПН. Это создаст предпосылки для разработки алгоритма вакцинопрофилактики HBV-инфекции в условиях лечения ПГД с использованием новых подходов, позволяющих повысить ее эффективность.

Литература

1. Зубкин МЛ, Селиванов НА, Стаханова ВМ и др. Распространенность и особенности инфицирования вирусами гепатитов В и С в условиях лечения гемодиализом. *Вопр. вирусол.* 2000; 1: 10–14.
2. Зубкин МЛ, Селькова ЕЛ, Стаханова ВМ и др. Гепатит В в центрах гемодиализа Москвы: клинико-эпидемиологическая характеристика. *Нефрология и диализ* 2001; 4: 442–446.
3. Зубкин МЛ. Динамика титра протективных антител после вакцинопрофилактики гепатита В у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, получающих лечение программным гемодиализом. *Нефрология и диализ* 2003; 3: 295.
4. Иващенко ВТ, Калинин АВ, Ивлев АС и др. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии* 1993; 2: 34–38.
5. Костерева ЕМ, Васильев АН, Михайлов АА и др. Проблемы вакцинации больных с хронической почечной недостаточностью, получающих лечение гемодиализом. *Нефрология* 2003; 1: 102–105.
6. Мартынов СИ и др. Инфекция вирусов гепатита среди гемодиализных пациентов в Якутии. XXXVI Congress of the European Renal Association European Dialysis and Transplant Association. Madrid, Spain 1999; 216.
7. Михайлов МИ, Шахгильдян ИВ, Есаулкова АЮ и др. Гепатит В – предварительный скрининг. Уральское медицинское обозрение. Тематическое приложение. 1998; 1: 19–21.
8. Онищенко ГГ, Шахгильдян ИВ. Актуальные вопросы эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов В и С в Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии* 2000; 1: 50–54.
9. Савин ЕА, Кузин СН, Ваишевич АИ и др. Предварительные результаты применения вакцины ENGERIX В в группах высокого риска инфицирования вирусом гепатита В – медицинских работников и больных отделений гемодиализа. Актуальные вопросы медицинской биотехнологии: Материалы науч. конф., посвященной 85-летию Томского НИИ вакцин и сывороток. Томск 1991; 1: 42–43.
10. Савин ЕА, Кузин СН, Бишинов ВН и др. Исследование значимости фактора гемотрансфузий в эпидемическом процессе гепатита С у пациентов отделений хронического гемодиализа с помощью имитационной компьютерной модели. *Вопросы вирусологии* 1993; 3: 135–137.
11. Савин ЕА, Кузин СН, Васильев АН и др. Особенности профилактики HB-вирусной инфекции в отделениях гемодиализа. *Терапевтический архив* 1995; 2: 47–51.
12. Самоходская ЛМ, Акимкин ВГ, Гранкин ВИ и др. Частота выявления маркеров инфицирования вирусами гепатитов В и С в крови пациентов отделения гемодиализа в зависимости от количества проведенных диализов. III Научно-практическая конференция «Внепочечные методы очищения крови в специализированной медицинской помощи». Москва 1997; 51–53.
13. Сычев АВ, Михайлов МИ. Инфицирование вирусом гепатита С медицинских работников и пациентов гемодиализных отделений Москвы. *Вопросы вирусологии* 1993; 3: 105–107.
14. Тареев ЕМ, Ермоленко ВМ, Ананьев ВА и др. Вирусные гепатиты у больных, находящихся на поддерживающем ГД. Особенности клиники. *Вопросы эпидемиологии* 1979; 4: 20–26.
15. Шахгильдян ИВ, Михайлов МИ, Хухлович ПА и др. Вакцинопрофилактика гепатита В в России – достижения, проблемы, перспективы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии* 2000; 2: 44–49.
16. Abbas N et al. The Department of Health recommendations for hepatitis B vaccinations is not effective in patients with chronic renal failure. XXXVI Congress of the European Renal Association European Dialysis and Transplant Association. Madrid, Spain 1999; 188.
17. Bergia R, Pellerey M, Berto I et al. Hepatitis B Vaccination in Uremic Patients: Comparison between Recombinant and Plasma-Derived Vaccine. *Nephron* 1992; 61: 328.
18. Bock HL, Kruppenbaber J, Sanger R et al. Иммуногенность рекомбинантной вакцины против гепатита В при вакцинации взрослых людей. *JAMA, Россия* 1996; 3: 37–43.
19. Boes M, Esau C, Fischer MB et al. Enhanced B-1 cell development, but impaired IgG antibody responses in mice deficient in secreted IgM. *J Immunol* 1998; 160: 4776–4787.
20. Bruguera M, Cremada M, Rodicio JL et al. Immunogenicity of a yeast-derived hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. *Am J Med* 1989; 87: 30–32.
21. Craven DE, Awdeh ZL, Kumbes LM et al. Non-responsiveness to hepatitis B vaccine in health care workers. *Am Intern Med* 1986; 105: 356–360.
22. Crosnier J, Degos F, Jungers P. Dialysis associated hepatitis. In: Replacement of renal function by dialysis (ed. J.F. Maher) Dordrecht: Kluwer Academic, 1989: 881–903.
23. Crovari P, Cuneo-Crovari P, Icardi Q.C et al. Immunization of young adults with two yeast-derived hepatitis B vaccines. In: Zuckerman AJ, ed. *Viral hepatitis and liver disease*. New York: Alan R Liss Inc. 1988: 1071–1073.
24. Descamps-Latscha B. Infection and immunity in end-stage renal disease. In: Dialysis (ed. W.L. Henrich). Baltimore, Philadelphia, Hong Kong: Williams & Wilkins, 1994: 209–224.
25. Deutsch T, Carson E, Ludwig E. *Dealing with Medical Knowledge*. Plenum Press. N.Y. and London 1994.
26. Dienstag JL, Werner B.G, Polk B.F. et al. Hepatitis B vaccine in health care personnel: safety, immunogenicity, and indicators of efficacy. *Am Intern Med* 1984; 101: 34–40.
27. Ehrenstein MR, O'Keefe T.L, Davies S.L. et al. Targeted gene disruption reveals a role for natural secretory IgM in the maturation of the primary immune response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998; 95: 10089–10093.
28. Fanelli V, Sanna G, Solinas A. Expectation of Impaired Response to Recombinant Hepatitis B Vaccination. *Nephron* 1992; 61: 293–295.
29. Fernandez E, Betror MA, Gomez R et al. Response to the hepatitis B virus vaccine in haemodialysis patients: influence of malnutrition and its importance as a risk factor for morbidity and mortality. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 1559–1563.
30. Girndt M, Kobler H. Hepatitis B Virus Infection Hemodialysis Patients. *Seminars in Nephrology* 2002; 4: 340–350.
31. Harnett J.D, Zeldis J.B, Parfrey P.S. et al. Hepatitis B disease in dialysis and transplant patients. *Transplantation* 1987; 44: 369–376.
32. Haubitz M, Eberding G, Beigel A et al. Clinical experience with a new recombinant hepatitis-B vaccine in previous non-responders with chronic renal insufficiency. *Clin Nephrol* 1996; 45: 180–182.
33. Hess G, Kreiter F, Koster W et al. The effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) on hepatitis B vaccination in haemodialysis patients. *J Vir Hepat* 1996; 3: 149–153.
34. Jungers P, Devillier P, Salomon H et al. Randomised placebo-controlled trial of recombinant interleukin-2 in chronic uremic patients who are non-responders to hepatitis B vaccine. *Lancet* 1994; 344: 856–857.
35. Kapoor D, Aggarwal S.R, Singh N.P. et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor enhances the efficacy of hepatitis B virus vaccine in previously unvaccinated hemodialysis patients. *J Viral Hepat* 1999; 6: 405–409.
36. Kayatas M, Akalin L, Ozdemir F.N. et al. Levamisole treatment enhances protective antibody response to hepatitis B virus vaccination (HBV). XXXIV Congress of the European Renal Association European Dialysis and Transplant Association. Geneva, Switzerland 1997; 173.
37. Khan A.N, Bernardini J, Rault R.M. et al. Low seroconversion with hepatitis B vaccination in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1996; 16: 370–373.
38. Krugman S. The newly licensed hepatitis B vaccine. *J Am med Ass* 1982; 247: 2012–2015.
39. Miller E.R, Alter M.J, Tolars J.L. Protective effect of hepatitis B vaccine in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1999; 33: 356–360.
40. Lombardi M, Pizzarelli F, Rigbi M. Hepatitis B Vaccination in Dialysis Patients and Nutritional Status. *Nephron* 1992; 61: 266–268.
41. Morgan D.R. (ed.) for the British Medical Association Board of Science and Education. A code of practice for implementation of the UK hepatitis B immunization guidelines for the protection of patients and staff. London, British Medical Association, 1995.
42. Navarro J.F, Teruel J.L, Mateos M.L. et al. Antibody level after hepatitis B vaccination in hemodialysis patients: influence of hepatitis C virus infection. *Am J Nephrol* 1996; 16: 95–97.
43. Neto M.C, Draibe S.A, Silva A.E.B. et al. Incidence of and risk factors

for hepatitis B virus and hepatitis C virus infection among hemodialysis and CAPD patients: evidence for environmental transmission. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 240–246.

44. *Norusis M.J.* SPSS_x Advanced Statistics Guide. N.Y. McGraw-Hill, 1985.

45. *Ono K., Kasbiwagi S.* Complete seroconversion by low-dose intradermal injection of recombinant hepatitis B vaccine in haemodialysis patients. *Nephron* 1991; 58: 47–51.

46. *Parfrey P.S., Farge D., Forbes R.D.C.* et al. Chronic hepatitis in end-stage renal disease: Comparison of HBsAg-negative and HBsAg-positive patients. *Kidney Int* 1985; 28: 959–967.

47. *Peces R., de la Torre M., Alcazar R.* et al. Prospective analysis of the factors influencing the antibody response to hepatitis B vaccine in haemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 239–245.

48. *Pereversev-Orlov B.C., Stenina I.I., Trunov V.G.* Syndrome Analysis of Data. *Pattern Recognition and Image Analysis* 1993; 3: 500–505.

49. *Propst T., Propst A., Lbotta K.* et al. Reinforced intradermal hepatitis B vaccination in hemodialysis patients is superior in antibody response to intramuscular or subcutaneous vaccination. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 1041–1045.

50. *Rao V.K., Ma J.* Chronic viral hepatitis enhances the risk of infection but not acute rejection in renal transplant recipients. *Transplantation* 1996; 62: 1765–1769.

51. *Sezer S., Ozdemir F.N., Guz G.* et al. Factors Influencing Response to Hepatitis B Virus Vaccination in Hemodialysis Patients. *Transplantation Proceedings* 2000; 32: 607–608.

52. *Sherlock S., Dooley J.* Diseases of the liver and biliary system. Oxford, London, Edinburgh, Malden: Blackwell Science Ltd, 1997: 274–286.

53. *Stachowski J., Pollok M., Barth C.* Non-responsiveness to hepatitis B vaccination in haemodialysis patients: association with impaired TCR/CD3 antigen expression regulating co-stimulatory pro-

cesses in antigen presentation and recognition. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 144–152.

54. *Sunder-Plassmann G., Heinz G., Wagner L.* T-cell selection and T-cell receptor variable beta-chain usage in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1992; 37: 252–259.

55. *Vlassopoulos D., Arvanitis D., Lilis D.* et al. Complete success of intradermal vaccination against hepatitis B in advanced chronic renal failure and hemodialysis patients. *Ren Fail* 1997; 19: 455–460.

56. *West D.J., Calandra G.B., Ellis R.W.* Vaccination of infants and children against hepatitis B. *Pediatr Clin North Am* 1990; 37: 185–601.

57. *Westmoreland D., Player V., Heap D.C.* et al. Immunization against hepatitis B – what can we expect? *Epidemiol Infect* 1990; 104: 499–509.

58. *Wood R.C., MacDonald K.L., White K.E.* et al. Risk factors for lack of detectable antibody following hepatitis B vaccination of Minnesota health care workers. *JAMA* 1993; 270: 2935–2939.

59. *Younossi M.Z., Braun E.W., Proitva A.D.* et al. Chronic viral hepatitis in renal transplant recipients with allografts functioning for more than 20 years. *Transplantation* 1999; 67: 272–275.

60. *Zuckerman J.N.* Hepatitis B third generation vaccines: improved response and conventional vaccine non-response – third generation pre-S/S vaccines overcome non-response. *Journal of Viral Hepatitis* 1998; 5: 13–15.