

*Originalni članci/
Original articles*

NOVI PROTOKOL IMUNIZACIJE
I OBAVEZNA KONTROLA IMUNITETA
PROTIV BESNILA

Correspondence to:

Dr Nenad Muškinja
Pasterov zavod
Novi Sad, Hajduk Veljkova 1.
Telefon: 021/420-528

E-mail: pasterov.zavod@gmail.com

NEW IMMUNIZATION SCHEDULE WITH
SEROCONVERSION TESTING

Nenad Muškinja¹, Srđan Stankov¹, Dragana Vujin¹,
Nenad Vranješ¹, Dušan Lalošević¹

¹Pasterov zavod Novi Sad

Ključne reči:

postekspoziciona imunizacija protiv
besnila, redukovani protokol, titar
antirabičnih antitela

Key words:

rabies postexposure prophylaxis,
reduced immunization protocol, rabies
virus antibody titer

Apstrakt:

Uvod: Protiv besnila se u Srbiji godišnje vakciniše oko 1500 pacijenata. Imunizacija po važećem protokolu traje 28 dana, a troškovi imunobioloških preparata su prosečno 800 eura. Tokom 2010. godine SZO je zemljama članicama uputila preporuku za izmenu ovog protokola, kao posledicu najnovijih saznanja u ovoj oblasti.

Cilj: Cilj našeg rada je bio da se utvrdi mogućnost primene redukovanog protokola postekspozicione imunizacije protiv besnila u Srbiji.

Materijal, ispitanici i metode: Prikupljan je serum postekspoziciono imunizovanih pacijenata u svim ustanovama koje sprovode antirabičnu zaštitu u Srbiji. Serumi su testirani RFFIT testom, a dobijeni podaci su obrađeni standardnim statističkim metodama.

Rezultati: Serokonverzija kod postekspoziciono imunizovanih pacijenata je sa uspehom postignuta u više od 90%, bez obzira da li su date četiri ili pet doza vakcine. Najveći procenat pacijenata koji nisu postigli zaštitni titar, pripada starosnoj dobi preko šezdeset godina.

Zaključak: Treba prihvatiti preporuku SZO i redukovati protokol imunizacije na četiri doze vakcine, s tim da se obavezno sprovodi kontrola uspeha imunizacije i postignutog titra antirabičnih antitela. Potrebno je sprovesti dodatna istraživanja o mogućnostima uvođenja alternativnog protokola, intradermalne vakcinacije, koja je široko prihvaćena u mnogim zemljama širom sveta.

UVOD

Besnilo ljudi je jedina, trenutno poznata, virusna bolest ljudi, od koje je smrtnost gotovo sto procenata. Ova činjenica, poznata u medicini, tokom poslednjih 2500 godina, ostaje nepromenjena. Po procenama SZO (Svetska zdravstvena organizacija), godišnje u svetu od besnila umire 55.000 ljudi⁽¹⁾. Jedina specifična mera zaštite, kojom se može sprečiti klinička manifestacija bolesti i smrt je imunizacija. Poslednji smrtni slučaj besnila čoveka registrovan je u Srbiji 1980. godine. U periodu 2006-2009. godine je u Srbiji protiv besnila imunizovano 5.591 osoba od ukupno 35.361 slučaja ozleda od strane životinja.

Imunizacija protiv besnila u Srbiji, ukoliko se računaju samo imunobiološki preparati, a ne rad stručnog osoblja angažovanog u sistemu antirabične zaštite, košta prosečno 800 eura po jednom imunizovanom pacijentu. Imunizacija je besplatna za pacijente, a troškove snosi država Srbija. S obzirom da u Srbiji trenutno ne postoji proizvodnja domaće vakcine protiv besnila, mada je 2001. godine proizveden

prototip domaće vakcine (YUBHK) u primeni je isključivo uvozna vakcina⁽⁴⁾. U Srbiji su registovane i odobrene za upotrebu vakcine: Verorab (Imovax Rabies Vero) proizvođača Aventis Pasteur S.A i RABIPUR proizvođača Novartis Vaccines and Diagnostics GmbH & Co KG. Od 2003. godine u Srbiji je kontinuirano u upotrebi samo Verorab vakcina, kao posledica centralizovanog snabdevanja vakcinom.

Od 1885. godine i prve uspešne vakcinacije protiv besnila, do danas, menjale su se i osavremenjivale i vakcine kao i sama procedura imunizacije. Luj Paster je svoje prve pacijente vakcinisao svakodnevno trinaest dana, živom atenuisanom vakcinom sa nervnog tkiva. Vakcinacija savremenijom vakcinom Adolfa Hempta u Pasterovom Zavodu u Novom Sadu, trajala je trideset dana sa ukupno sedam doza vakcine⁽²⁾. Vakcina proizvedena na pačjim embrionima je davana četrnaest do dvadeset puta u zavisnosti od protokola. Sredinom sedamdesetih godina prošlog veka, uvedene su u upotrebu vakcine sa kulture ćelija, koje su, po preporuci SZO do avgusta 2010, aplikovane po protokolu 0,3,7,14 i 28

(nulti dan je dan početka imunizacije). Ovakav protokol se primenjuje i u Srbiji, prema poslednjem Pravilniku o imunizaciji iz 2006.godine (3).

Po protokolu antirabična zaštita, odnosno imunizacija protiv besnila, se sprovodi aplikacijom pet doza savremene vakcine sa kulture ćelija po rasporedu 0, 3, 7, 14, 28; s tim što se prvog dana imunizacije „0“, u samu ranu aplikuje i HRIG (humani antirabični imunoglobulin).

Tokom 2007, 2008 i 2009.godine došlo je do poremećaja u proizvodnji vakcine protiv besnila na svetskom nivou(5). Nedostatak vakcine je primorao stručnjake širom sveta da testiraju redukovane protokole imunizacije protiv besnila. Posle niza kliničkih ispitivanja, CDC (Center for Disease Control) iz Atlante SAD, je inicirao a, ACIP (Advisory Committee on Immunization Practices), marta 2010. godine i doneo izmenjen protokol vakcinacije(6). Protokol ukida petu dozu vakcine, koja se aplikovala 28. dana. Na osnovu analiza titra antirabičnih antitela kod postekspoziciono imunizovanih pacijenata, zaključeno je da je imunizacija upotrebom HRIG-a po ranijem protokolu i davanje četiri doze vakcine 0, 3, 7 i 14. dana, dovoljna da se kod svih imunokompetentnih pacijenata proizvede zaštitni nivo antitela protiv virusa besnila. U avgustu 2010. godine i SZO je ovakav protokol imunizacije uvrstila u zvaničnu preporuku svim zemljama članicama(1).

Tokom 2010.godine, Pasterov zavod u Novom Sadu, u okviru svojih nadležnosti kao nacionalne referentne ustanove za besnilo, je inicirao i u saradnji sa svim ustanovama u kojima se sprovodi antirabična zaštita u Srbiji, sproveo istraživanje postekspozicionog imuniteta. Cilj istraživanja je da se u našim uslovima utvrdi mogućnost primene redukovanog protokola vakcinacije.

MATERIJAL, ISPITANICI I METODE

Tokom četiri meseca, prikupljeni su serumi svih postekspoziciono imunizovanih pacijenata sa teritorije čitave Srbije. Serumi su uzorkovani 28. dana imunizacije, neposredno pre aplikovanja pete doze vakcine protiv besnila. Svi serumi su testirani u Pasterovom zavodu RFFIT (Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test) testom i utvrđen je nivo titra antirabičnih antitela.

Da bismo utvrdili da li je procenat pacijenata kod kojih nije postignut zaštitni titar posle četvrte doze vakcine različit u odnosu na imunizaciju sa pet doza vakcine, uporedili smo podatke sa podacima iz predhodnih godina. Po Pravilniku o imunizacijama(3), u Pasterovom zavodu se od 2007. godine radi RFFIT test kod svih pacijenata koje je ozledila životinja iz epidemiološke grupe A ili B, ili ako postoji podatak o imunosupresiji. Kod ovih pacijenata je serum uzorkovan dve nedelje posle pete doze vakcine.

Dobijeni rezultati su analizirani upotrebom standardnih statističkih metoda.

REZULTATI

Ukupno je prikupljeno n=299 uzoraka seruma pacijenata. Svi serumi su čuvani i transportovani po standardnim operativnim procedurama Pasterovog zavoda za RFFIT test. RFFIT test je urađen u referentnoj laboratoriji Pasterovog zavoda.

Tabela 1. Sumarna statistika testiranih seruma pacijenata, uzorkovanih pre aplikacije pete doze vakcine

Naziv	Vrednost
Veličina uzorka	299
Najniži titar	0,14
Najviši titar	142,30
Geometrijska sredina (GMT)	4,15
Mediana	4,60

Prosečna vrednost postignutog titra je 28.dana od početka imunizacije bila 4,15 IJ. Najviši titar je iznosio 142,3 IJ, a najniži 0,14 IJ. S obzirom na podatke iz literature, po kojima je starost pacijenata faktor koji utiče na imunokompetenciju, analizirali smo postignute titrove u odnosu na životnu dob pacijenata(8).

Tabela 2. Distribucija titra antitela po starosnim grupama pacijenata

Titar antitela	Starost u godinama				Ukupno %	
	0-6	7-18	19-59	60+		
<0,5	0	0	8	20	28	9,4
0,5-4	0	19	62	32	113	37,8
>4	8	48	74	28	158	52,8
Ukupno	8	67	144	80	299	100,00

Od ukupno 299 testiranih uzoraka seruma, u 28 (9,5%) nije utvrđen zaštitni nivo titra. Najveći procenat pacijenata koji nisu stvorili zaštitni titar posle četvrte doze vakcine su pacijenti stariji od 60 godina (71,4%). Analizom svakog pojedinačnog pacijenta, utvrdili smo da kod svih ima elemenata za postavljanje statusa imunokompromitovanosti, bilo po osnovu životne dobi, imunosupresivne terapije ili postinfektivnog stanja.

U periodu 2007-2010. RFFIT testom je testirano ukupno n=430 seruma pacijenata imunizovanih sa pet doza vakcine. Serum uzorkovan 14.dana posle 5.doze vakcine

Tabela 3. Titrovi antitela pacijenata imunizovanih sa 5 doza vakcine u periodu 2007.-2010. godine

Titar antitela	2010 n =	%	2009 n =	%	2008 n =	%	2007 n =	%
<0,5	5	6,4	13	8,8	8	6,5	10	12,4
>0,5	73	93,6	134	91,2	116	93,5	71	87,6
Ukupno	78	100,0	147	100,0	124	100,0	81	100,0

Tabela 4. Komparacija titrova antitela pacijenata posle 4. i posle 5. doze vakcine

Titar antitela	Serum uzorkovan 28.dana – pre aplikacije 5.doze vakcine 2010. godine		Serum uzorkovan 14. dana – posle 5. doze vakcine 2007-2010. godine	
	n=	%	n=	%
<0,5	28	9,4	36	9,2
>0,5	271	90,6	394	90,8
Ukupno	299	100,0	430	100,0

Statistički su analizirani odnosi grupa pacijenata koji nisu postigli zaštitni titar od 0,5 IJ, a vakcinisani su po protokolu sa pet doza vakcine 2010-2007. godine u odnosu na pacijente koji nisu postigli zaštitni titar od 0,5 IJ, a serum im je uzorkovan pre aplikovane pete doze vakcine. Utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između ovih grupa, korišćen je Z-test za proporcije.

DISKUSIJA

Naši rezultati pokazuju da oko 10% pacijenata ne postigne zaštitni titar od 0,5IJ kod intramuskularnog davanja bilo 4 ili 5 doza vakcine.

Na osnovu podataka iz literature, naši podaci se mogu porediti sa studijom Lang J, Simanjuntak GH(8), u kojoj je Verorab vakcina aplikovana po Zagreb protokolu (4 doze vakcine), pacijentima je prvog dana imunizacije aplikovan HRIG, a serumi su uzorkovani 28. dana od početka imunizacije. U uzorku od 45 postekspoziciono imunizovanih pacijenata, procenat pacijenata koji nisu postigli zaštitni titar od 0,5 IJ je bio 9,3%.

Uspešnost imunizacije protiv besnila zavisi od velikog broja faktora. Neki od faktora mogu biti potencija serije vakcine, uslovi transporta i skladištenja vakcine pre upotrebe, obučenosť osoblja koje sprovodi imunizaciju, obučenosť osoblja koje radi RFFIT test i mnoge druge. Razlog za lošiji imuni odgovor može biti i pogrešna aplikacija vakcine u subkutano masno tkivo umesto muskularno. Zato je naša preporuka da se za aplikaciju vakcine nikako ne koriste igle kraće od 38mm. (G22 0,7x38).

S druge strane, dokazano je da je muskularna primena vakcina daje niži titar antitela nego intradermalna, tako da se generalno može preporučiti intradermalna primena vakcine protiv besnila, po protokolu SZO⁽¹⁾, gde za to postoji obučeno osoblje. Intradermalna primena vakcina je osim toga manje invazivna procedura, zahteva 1/2 količine vakcine potrebne za muskularnu aplikaciju, a pri tome brže daje viši titar antitela od muskularne.

Često se u stručnoj literaturi kao merilo uspešnosti postavlja preživljavanje pacijenata. U velikom broju zemalja je ekonomski neprihvatljivo testiranje titra antitela kod svakog postekspoziciono imunizovanog pacijenta.

ZAKLJUČAK

Na osnovu iskustava iz drugih zemalja, kao i na osnovu preporuke SZO, čiji je Srbija član, postoji opravdana potreba za izmenu važećeg protokola postekspozicione imunizacije protiv besnila u Srbiji. Istraživanje sprovedeno u Pasterovom zavodu, nacionalnoj referentnoj ustanovi za besnilo u Srbiji, dodatno podupire preporuku SZO. Preporuka je da se postojeći protokol postekspozicione imunizacije protiv besnila izmeni i da se imunizacija sprovodi na sledeći način:

1. U slučaju postojanja indikacije za antirabičnu imunizaciju, imunizacija se započinje aplikacijom HRIG-a u količini od 20IJ/kg TM pacijenta, HRIG se aplikuje u ujednu ranu kao i neposrednu okolinu rane.

2. Vakcina protiv besnila se aplikuje intramuskularno po šemi 0, 3, 7, 14 s tim što je „0“ oznaka za prvi dan imunizacije.

3. Dve nedelje posle četvrte doze vakcine, 28. dana od početka imunizacije, uzorkuje se serum pacijenta, izvodi se RFFIT test. U slučaju da pacijent nije postigao zaštitni titar od 0,5 IJ, sprovodi se busterizacija jednom dozom vakcine, nakon koje u razmaku od dve nedelje se ponavlja RFFIT test.

4. Alternativno, ukoliko je osoblje obučeno i osposobljeno primeniti intradermalnu vakcinaciju protiv besnila po protokolu SZO.

Abstract:

Introduction: In Serbia about 1,500 patients are vaccinated against rabies each year. Immunization schedule by current protocol take 28 days and costs an average 800 € for immunobiological preparations only. In 2010 the WHO issued a recommendation to amend this protocol as a result of the latest knowledge in this field.

Objective: The aim of our study was to determine the possibility of applying reduced protocol for rabies postexposure prophylaxis (PEP) in Serbia.

Material, subjects and methods: Serum samples were collected from PEP patients in all institutions that conduct antirabic protection in Serbia. Serum samples were tested by RFFIT(Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test) test, and data were analyzed by standard statistical methods.

Results: Seroconversion in was successfully achieved in more than 90% patients, regardless of whether they were given four or five doses of rabies vaccine. The highest percentage of patients who did not achieve a protective titer were patients over sixty years of age.

Conclusion: We suggest acceptance of the recommendation of WHO and reduce the immunization protocol to four doses of vaccine, with the condition that the success of the immunization should be tested at each patient. It is necessary to conduct additional research on the possibility of introducing an alternative intradermal vaccination protocol, which is widely accepted in many countries around the world.

LITERATURA

1. Rabies vaccines: WHO position paper. Weekly epidemiological record, No. 32, 2010, 85, 309–320.
2. Lalošević D.: 130 godina od rođenja dr Adolfa Hempta. Eskulap, 2008; 3, (1-2):97-101.
3. Pravilnik o imunizaciji i načinu zaštite lekovima. Sl. glasnik RS, br. 11/2006.
4. Lalošević D, Lalošević V, Lazarević-Ivanc Lj, Knezević I. BHK-21 cell culture rabies vaccine: immunogenicity of a candidate vaccine for humans. Dev Biol (Basel). 2008;131:421-9.
5. H Bourhy, M Goudal, A Mailles, M Sadkowska-Todys, L Dacheux, H Zeller. Is there a need for anti-rabies vaccine and immunoglobulins rationing in europe? Eurosurveillance, Volume 14, Issue 13, 02 April 2009.
6. Use of a Reduced (4-Dose) Vaccine Schedule for Postexposure Prophylaxis to Prevent Human Rabies . Morbidity and Mortality Weekly Report; March 19, 2010 / Vol. 59 / No. RR-2.
7. Wilde H. Failures of post-exposure rabies prophylaxis. Vaccine 2007; 25, 7605–7609.
8. Lang J, Simanjuntak GH, Soerjosembodo S, Koesharyono C. Suppressant effect of human or equine rabies immunoglobulins on the immunogenicity of post-exposure rabies vaccination under the 2-1-1 regimen: a field trial in Indonesia. MAS054 Clinical Investigator Group.; Bull World Health Organ. 1998;76(5):491-5.