

ΜΠΣ ΒΙΟΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΜΗΜΑ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΝΤΩΝΙΟΣ ΤΣΙΜΠΙΔΑΚΗΣ

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ HIV- ΛΟΙΜΩΞΗ ΣΕ ΕΝΑ
ΙΣΧΥΡΟ ΕΜΒΟΛΙΑΣΤΙΚΟ ΣΧΗΜΑ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

ΑΘΗΝΑ, 2018

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο των σπουδών για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στη

ΒΙΟΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ

που απονέμει η Ιατρική Σχολή και το Τμήμα Μαθηματικών του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Εγκρίθηκε την..... από την εξεταστική επιτροπή:

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ

ΒΑΘΜΙΔΑ

ΥΠΟΓΡΑΦΗ

Γ. ΤΟΥΛΟΥΜΗ (Επιβλέπουσα)

ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

.....

Σ. ΚΟΥΡΚΟΥΝΤΗ

.....

Γ. ΒΟΥΡΛΗ

.....

Αφιερωμένο

Στην οικογένειά μου

Ευχαριστώ
τους δασκάλους μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο (ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ)	
1.1 Εισαγωγή	6
1.2 HIV	7
1.3 HBV	14
1.4 Συλλοίμωξη HIV/HBV - εμβολιασμός	18
1.5 Λογιστική Παλινδρόμηση	24
2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο (ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΜΕΛΕΤΗΣ)	
2.1 Μέθοδοι	28
2.1.1 Σχεδιασμός	28
2.2.2 Σκοπός	29
2.2.3 Στατιστική Ανάλυση	29
2.2 Αποτελέσματα	31
2.3 Συζήτηση	42
3. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	46
4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	50

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 Εισαγωγή

Λόγω του κοινού τρόπου μετάδοσης που μοιράζονται οι ιοί HIV και HBV (επαφή με μολυσμένο αίμα, σεξουαλική επαφή, κάθετη μετάδοση κατά τον τοκετό) η συλλοίμωξη και με τους δύο ιούς είναι συχνή, καθιστώντας τις σχετιζόμενες με το ήπαρ νόσους (κυρίως ηπατοκυτταρικό καρκίνο και χρόνια ηπατίτιδα), σημαντική αιτία θνησιμότητας και νοσηρότητας στον πληθυσμό αυτό. Η συχνότητα ταυτόχρονης λοίμωξης με τους δύο ιούς φτάνει το 10% του HIV μολυσμένου πληθυσμού και περίπου το 50% των HIV μολυσμένων χρηστών ενδοφλέβιων ναρκωτικών (Thio 2009). Έτσι, στην εποχή της υψηλής δραστηριότητας αντιρετροϊκής αγωγής (highly active antiretroviral therapy - HAART) έναντι της HIV λοίμωξης, η οποία είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική και με ελάχιστες παρενέργειες καθιστώντας την HIV λοίμωξη σχεδόν χρόνιο νόσημα, ο εμβολιασμός των HIV οροθετικών ασθενών έναντι του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV) είναι επιβεβλημένος και συστήνεται σε όλους τους ασθενείς που δεν έχουν εκτεθεί ήδη στον HBV. Ωστόσο, έχει βρεθεί ότι το καθιερωμένο εμβολιαστικό σχήμα που εφαρμόζεται στον υγιή πληθυσμό δεν έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα στους HIV οροθετικούς ασθενείς (Yao&Moorman 2013). Διάφορες μελέτες που έχουν γίνει προτείνουν διαφορετικά σχήματα εμβολιασμού (υψηλότερη δοσολογία, περισσότερες δόσεις, άλλη οδό χορήγησης) με σκοπό την επίτευξη ικανοποιητικότερης ανοσοποίησης έναντι του HBV στον πληθυσμό αυτό (Chaiklang et al. 2013; Jacques et al. 2002; Kim et al. 2003; Launay et al. 2016; Nyström et al. 2008; Potsch et al. 2012; Rahman et al. 2000; das Graças Sasaki et al. 2003). Σκοπός της παρούσης μελέτης είναι η αξιολόγηση εμβολιαστικού σχήματος έναντι του HBV, με διπλάσια δόση (40mcg) σε σχέση με το κλασικό σχήμα (20mcg), σε δείγμα HIV-οροθετικών ασθενών υπό θεραπεία και με μη ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο. Στο 1^ο μέρος της εργασίας παρουσιάζονται

αρχικά γενικά στοιχεία για τους ιούς HIV και HBV, την επιδημιολογία τους και τη φυσική τους ιστορία και ακολούθως στοιχεία για την ταυτόχρονη συλλοίμωση με τους δύο ιούς. Στη συνέχεια αναλύεται τι ισχύει για τον εμβολιασμό έναντι του HBV και παρουσιάζονται μελέτες με τα διάφορα εμβολιαστικά σχήματα που έχουν προταθεί για του HIV οροθετικούς ασθενείς. Στο τελευταίο κεφάλαιο του 1^{ου} μέρους αναλύεται η στατιστική μέθοδος της λογιστικής παλινδρόμησης (logistic regression) που είναι η κύρια μέθοδος που εφαρμόζεται στην ανάλυση της παρούσης μελέτης. Στο 2^ο μέρος παρουσιάζονται τα περιγραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος, η στατιστική ανάλυση των δεδομένων και τα αποτελέσματά της και ολοκληρώνεται με το κεφάλαιο της συζήτησης πάνω στο θέμα.

1.2 HIV

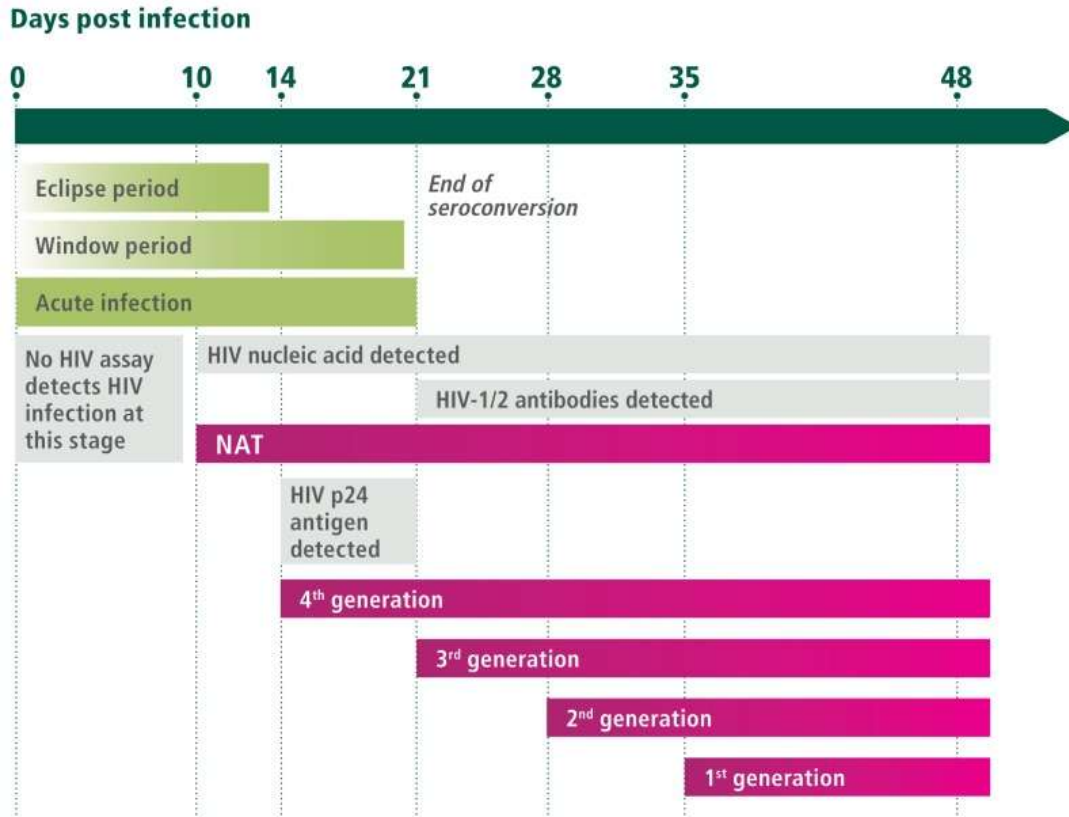
Ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV-1 και HIV-2) είναι ρετροϊός της οικογένειας Retroviridae, γένος Lentivirus. Οι πιο τυπικοί τρόποι μετάδοσης είναι μέσω σεξουαλικής επαφής, από χρήση κοινής σύριγγας σε χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών, μέσω μετάγγισης παραγώγων αίματος και μετάδοση από μητέρα σε παιδί (που μπορεί να συμβεί κατά τον τοκετό ή κατά τη διάρκεια του θηλασμού) (Sierra et al. 2005).

Ο HIV-1 και HIV-2 είναι επικαλυμμένοι, διπλοειδείς, μονόκλωνοι, θετικής κατεύθυνσης RNA ιοί και ενσωματώνονται στο DNA του ξενιστή μέσω ενός προϊικού δίκλωνου DNA (Sierra et al. 2005). Ο πιο ευρέως διαδεδομένος παγκοσμίως τύπος είναι ο HIV-1, ενώ ο HIV-2 κυρίως εντοπίζεται κυρίως στην Αφρική. Στο γονιδίωμα του ιού υπάρχουν τα δομικά για τους RNA ιούς γονίδια *gag*, *pol*, *env* αλλά επίσης περιλαμβάνουν και κάποια ακόμα βοηθητικά γονίδια. Ο HIV-1 έχει 6 επιπλέον γονίδια: *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr*, και *vrm*. Ο HIV-2 δεν έχει το *vrm* αλλά αντί γι αυτό έχει το μοναδικό γονίδιο *vrx* (Fanales-Belasio et al. 2010). Ο μόνος άλλος ιός που γνωρίζουμε να περιέχει το εν λόγω γονίδιο *vrm* είναι ο simian immunodeficiency virus στους χιμπατζήδες (SIVcpz) (Gao et al. 1999).

Ο κύκλος αντιγραφής του HIV

Ο HIV προσκολλάται σε κύτταρα με μεμβρανικούς CD4 υποδοχείς δηλαδή T-βοηθητικά λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, κύτταρα Langerhans. Ακολουθεί η είσοδος του ιού στο κύτταρο ξενιστή και το RNA μεταγράφεται σε DNA μέσω της αντίστροφης μεταγραφάσης. Το νέο μόριο διπλής έλικας DNA ενσωματώνεται στο DNA του ξενιστή ως προϊός (provirus) μέσω του ενζύμου ιντεγκράση. Ακολούθως η αντιγραφή και μεταγραφή του προϊού ρυθμίζεται από τις πρωτεΐνες του ξενιστή (Sierra et al. 2005).

Ο HIV δεν είναι βιώσιμος εκτός της κυκλοφορίας του αίματος ή του λεμφικού ιστού. Γι αυτό η μετάδοση γίνεται μόνο μέσω απ ευθείας έκθεσης σε μολυσμένο αίμα ή εκκρίσεις (πχ μέσω βελόνας ή βλαβών στους βλεννογόνους κατά τη σεξουαλική επαφή). Η μετάδοση εξαρτάται από τις βιολογικές ιδιότητες του ιού, την συγκέντρωση του στον μολυσμένο άτομο και την ευαισθησία του ξενιστή. 10-12 ημέρες μετά την μόλυνση ιικό RNA ανιχνεύεται στο αίμα με μεθόδους real time PCR. Αυτή η πρώτη περίοδος της ιαμίας είναι πολύ σημαντική καθώς το προσβεβλημένο άτομο είναι εξαιρετικά μολυσματικό λόγω των υψηλών επιπέδων ιικού RNA και άρα μπορεί να μεταδώσει τον ιό, ενώ παράλληλα μπορεί να γίνει διάγνωση από δείγμα αίματος. Η ιαμία αυτή αυξάνεται ραγδαία αλλά δεν διαρκεί πολύ καθώς ταυτόχρονα ο ξενιστής μέσω κυτταρικής και χυμικής ανοσίας ελέγχει μερικώς την αντιγραφή του ιού (ορομετατροπή). Μέσα στις επόμενες εβδομάδες η ιαμία μειώνεται μέχρι ενός επιπέδου και σπάνια σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα. Στη φάση αυτή πολύ σημαντικό ρόλο έχουν τα CD8 T λεμφοκύτταρα. Ο χρόνος από την λοίμωξη μέχρι την εμφάνιση των HIV ειδικών αντισωμάτων (ορομετατροπή) κυμαίνεται από 3-5 εβδομάδες (Σχήμα 1). Η σταδιακή καταστροφή των CD4 T κυτταρικών πληθυσμών είναι το σήμα κατατεθέν της HIV λοίμωξης με το AIDS να είναι το τελευταίο στάδιο. Η ημίσεια ζωή ενός ιού είναι τόσο σύντομη που ο μισός ιικός πληθυσμός στο πλάσμα ανανεώνεται σε λιγότερο από 30 λεπτά. Η διάγνωση πλέον γίνεται με 4^{ης} γενιάς τεστ που ανιχνεύει την πρωτεΐνη-αντιγόνο p24, η οποία εμφανίζεται πριν τα ειδικά αντισώματα. Ακολούθως πρέπει να γίνει PCR για επιβεβαίωση και ανίχνευση του ιικού RNA (World Health Organization 2015). Στο σχήμα 1 παρουσιάζεται το χρονικό παράθυρο μετά από το οποίο το κάθε τεστ μπορεί να διαγνώσει τη λοίμωξη.



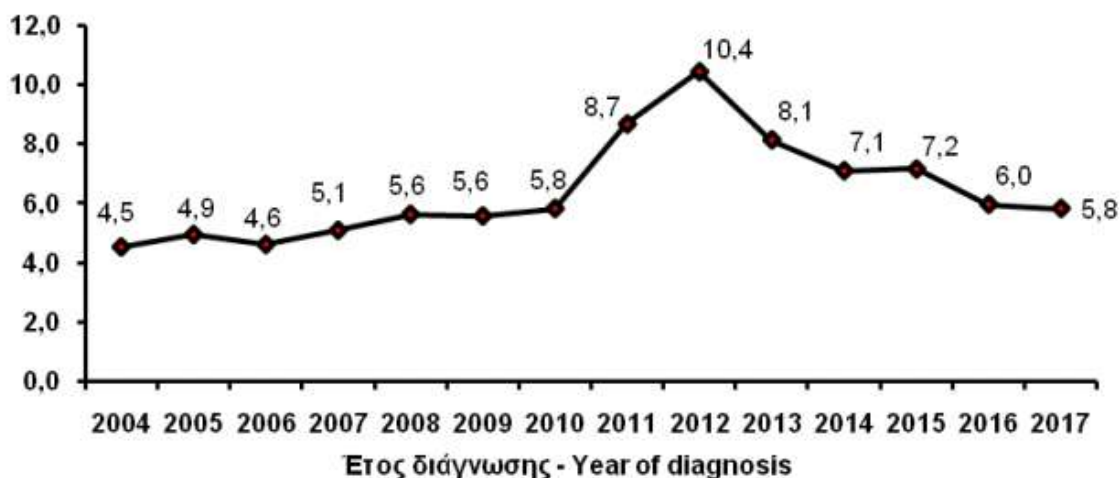
Σχήμα 1 Διαφορετικά τεστ για τη διάγνωση του HIV και χρονικό διάστημα μετά το οποίο μπορούν να ανιχνεύσουν τον ιό (Πηγή WHO) NAT: laboratory-based nucleic acid testing (πηγή WHO: Consolidated Guidelines on HIV Testing Services: 5Cs: consent, confidentiality, counselling, correct results and connection 2015)

Επιδημιολογία

Ο συνολικός αριθμός των δηλωμένων από την αρχή της επιδημίας HIV οροθετικών ατόμων (συμπεριλαμβανομένων των περιπτώσεων AIDS) στην Ελλάδα (μέχρι την 31η Δεκεμβρίου 2017) ανέρχεται σε 16.669, εκ των οποίων το 82,84% ήταν άνδρες. Το 2017 διαγνώστηκαν και δηλώθηκαν 628 νέα περιστατικά (5.8 ανά 100.000 πληθυσμού). Στο σχήμα 2 παρουσιάζονται οι νέες διαγνώσεις ανά 100000 πληθυσμού κατά τα προηγούμενα έτη (keelrno.gr 2017).

Διαγνώσεις HIV λοίμωξης ανά 100.000 πληθυσμού στην Ελλάδα (2004-2017)

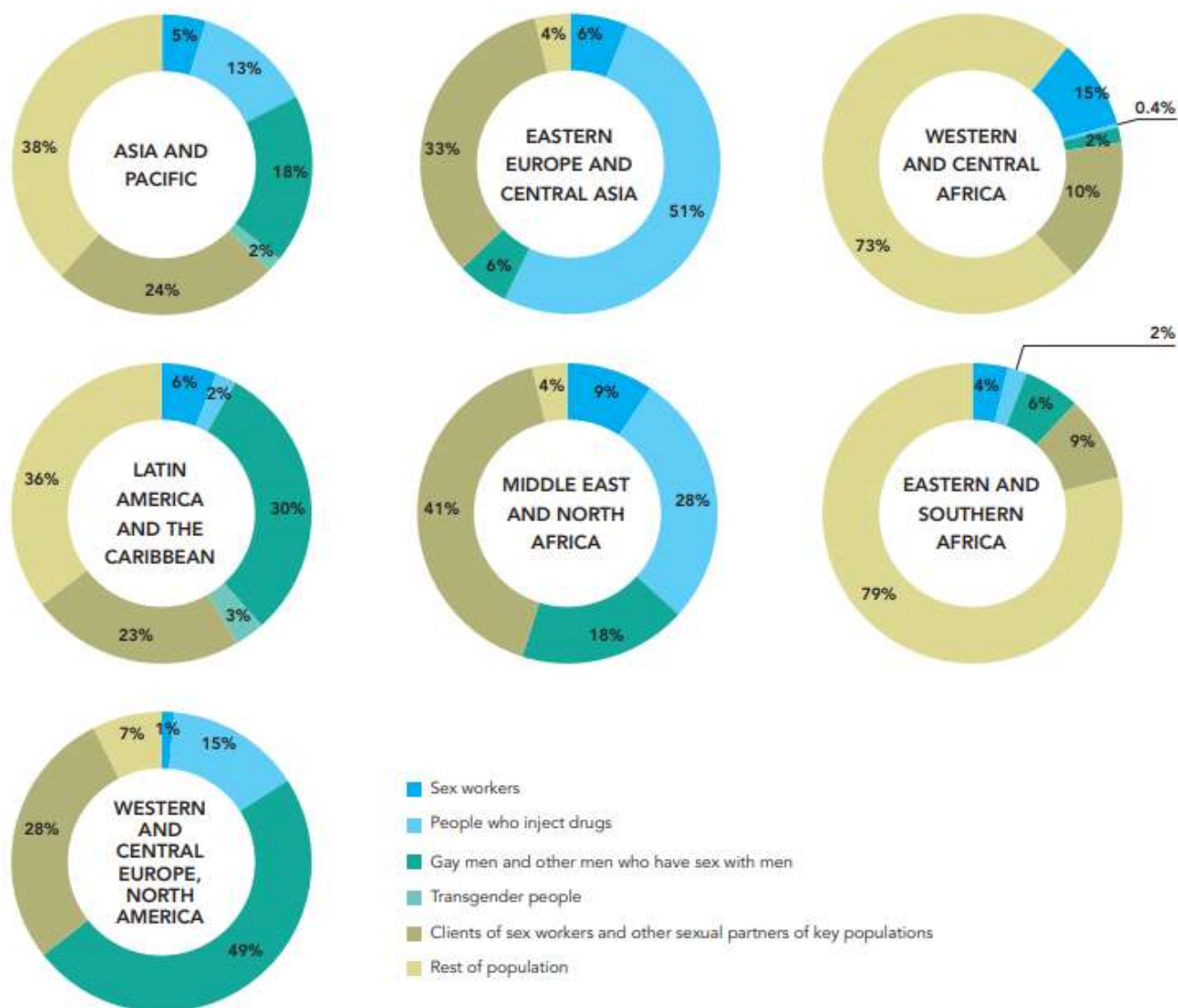
HIV diagnoses per 100,000 population in Greece (2004-2017)



Σχήμα 2 Διαχρονικές τάσεις νέων διαγνώσεων HIV λοίμωξης στην Ελλάδα. Πηγή keelrno.gr

Σύμφωνα με τα αντίστοιχα επιδημιολογικά δεδομένα παγκοσμίως, από το κοινό πρόγραμμα των Ηνωμένων Εθνών για το HIV / AIDS (UNAIDS) για το 2015, περίπου 36,7 εκατομμύρια άνθρωποι (1% του συνολικού ενήλικου πληθυσμού ηλικίας 15-49 ετών) ήταν μολυσμένοι από τον ιό HIV (μείωση σε σχέση με το 2006, όταν ο αριθμός ήταν 39,5 εκατομμύρια). Το UNAIDS εκτιμά ότι περίπου 2,1 εκατομμύρια νέα περιστατικά HIV λοίμωξης καταγράφηκαν το 2015 (αντίστοιχα 2,2 εκατ. το 2010), ενώ οι θάνατοι από το AIDS ήταν 1,1 εκατομμύρια άτομα (αντίστοιχα 1,5 εκατ. το 2010). Παγκοσμίως, όπως και στην Ελλάδα, οι επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν μάλλον μία μικρή μείωση της επίπτωσης με την πάροδο του χρόνου, τα τελευταία έτη. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η κατανομή των νέων περιπτώσεων ανά ειδική πληθυσμιακή ομάδα, δηλαδή χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών -XEN-, άνδρες με σεξουαλική επαφή με άνδρες -ΑΣΑ-, εκδιδόμενοι και οι πελάτες τους και τρανς άτομα. Η κατανομή αυτή φαίνεται στο σχήμα 3 ανά περιοχή του παγκόσμιου χάρτη (UNAIDS 2016).

Distribution of new HIV infections among population groups, by region, 2014



Source: UNAIDS special analysis, 2016.

Methodological note: Estimated numbers of new HIV infections by key population were compiled from country Spectrum files submitted in 2015 to UNAIDS (2014 data), available modes-of-transmission studies and additional sources of data drawn from GARPR reports. Where data were lacking, regional medians were calculated from available data and applied to countries' populations.

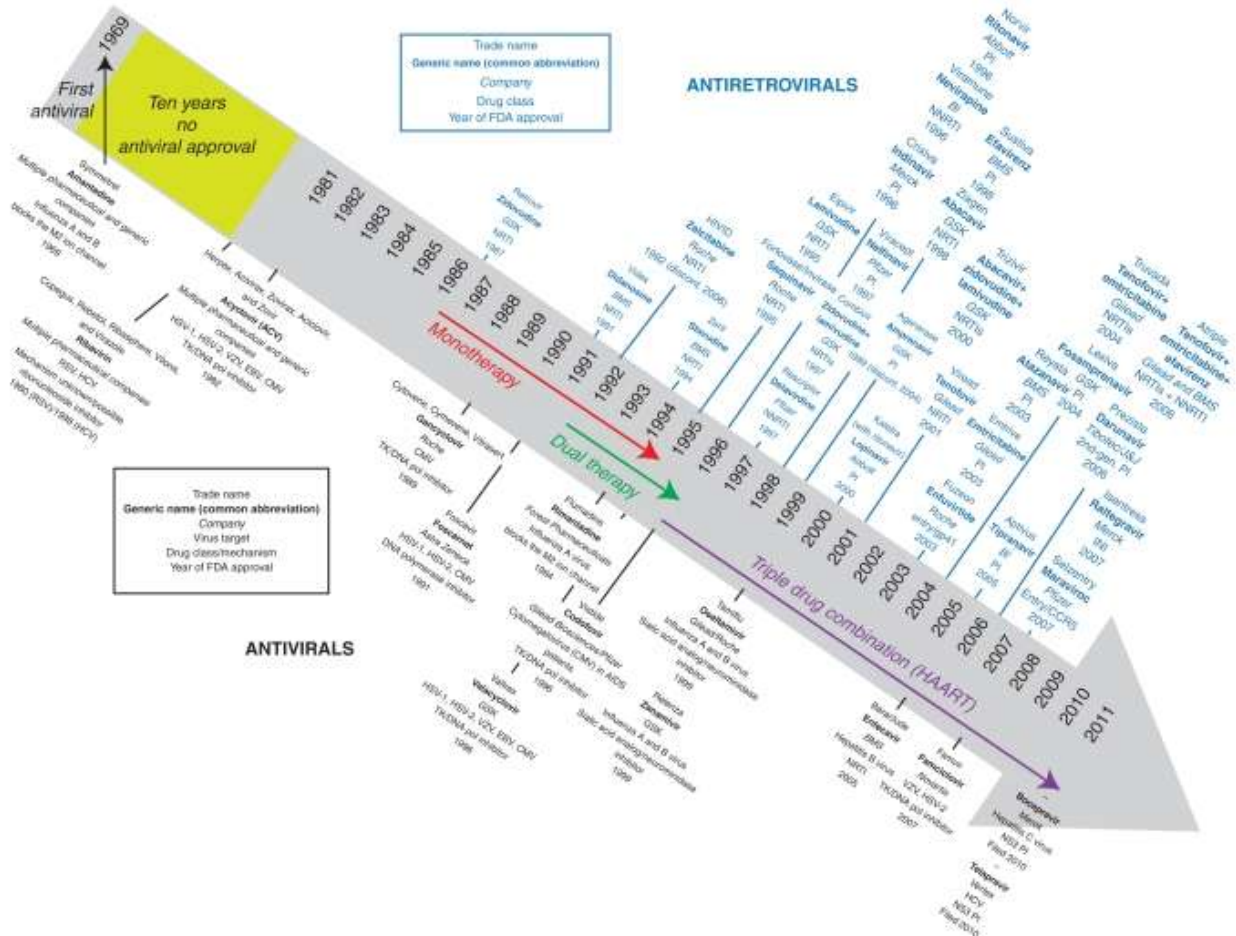
Σχήμα 3 Κατανομή νέων διαγνώσεων HIV ανά ειδική πληθυσμιακή ομάδα (XEN, ΑΣΑ, εργαζόμενοι στην πορνεία και οι πελάτες τους και τρανς άτομα), σε κάθε γεωγραφική περιοχή. Πηγή unaids.org

Στην δυτική Ευρώπη και την Β. Αμερική οι μισές περιπτώσεις αφορούν ΑΣΑ ενώ από το από τις υπόλοιπες μισές η πλειοψηφία σχετίζεται με την πορνεία. Στην ανατολική Ευρώπη και

κεντρική Ασία παρατηρείται ένα ανησυχητικά υψηλό ποσοστό στους χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών όπου μάλιστα έχει παρατηρηθεί και αύξηση της επίπτωσης του HIV στις περιοχές αυτές. Αντίθετα στην Αφρική η μεγάλη πλειοψηφία δεν αφορά αυτές τις ειδικές ομάδες αλλά όλο τον πληθυσμό.

HAART

Οι ασθενείς με HIV πρέπει να λαμβάνουν μακροχρόνια θεραπευτική αγωγή καθώς δεν υπάρχει διαθέσιμη θεραπεία για ίαση. Το 1996 η εμφάνιση της συνδυαστικής θεραπείας ,γνωστή ως HAART, για τη θεραπεία της λοίμωξης από τον ιό HIV-1 αποτέλεσε τη βάση για τη μείωση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας που σχετίζονται με τη λοίμωξη HIV-1 και το AIDS (Arts & Hazuda 2012; Collier et al. 1996; D'Aquila et al. 1996). Οι κατευθυντήριες οδηγίες πλέον περιλαμβάνουν συνδυασμό τριών φαρμακευτικών σκευασμάτων αντιρετροϊκής αγωγής. Στο σχήμα 4 φαίνεται η εξέλιξη της θεραπείας έναντι του HIV από την 10ετία του 80 έως σήμερα.



Σχήμα 4 Διαχρονική εξέλιξη φαρμακευτικής αγωγής έναντι του HIV (Arts & Hazuda 2012)

Οι διαθέσιμες κατηγορίες φαρμάκων σήμερα είναι οι εξής 6 ανάλογα με τον μοριακό μηχανισμό δράσης τους: (1) Νουκλεοσιδικοί Αναστολείς ανάστροφης τρανσκριπτάσης - nucleoside-analog reverse transcriptase inhibitors- (NRTIs), (2) Μη Νουκλεοσιδικοί Αναστολείς ανάστροφης τρανσκριπτάσης -non nucleoside reverse transcriptase inhibitors- (NNRTIs), (3) Αναστολείς ιντεγκράσης -integrase inhibitors- (INSTI), (4) Αναστολείς πρωτεάσης -protease inhibitors- (PIs), (5) Αναστολείς εισόδου-σύντηξης -fusion inhibitors- (FIs) και (6) Ανταγωνιστές συνηποδοχέα (co-receptor antagonists). Ο συνδυασμός των αντιρετροϊκών φαρμάκων καταστέλλει την αντιγραφή του ιού και μειώνει το ιικό φορτίο στο πλάσμα σε πολύ χαμηλά επίπεδα μη ανιχνεύσιμα (<50 RNA copies/mL) με αποτέλεσμα σημαντική ανάκαμψη του ανοσοποιητικού συστήματος (Autran et al. 1997; Komanduri et al. 1998; Lederman et al. 1998) με αύξηση των κυκλοφορούντων T4 CD4⁺ T-λεμφοκυττάρων. Το σκεπτικό της συνδυαστικής

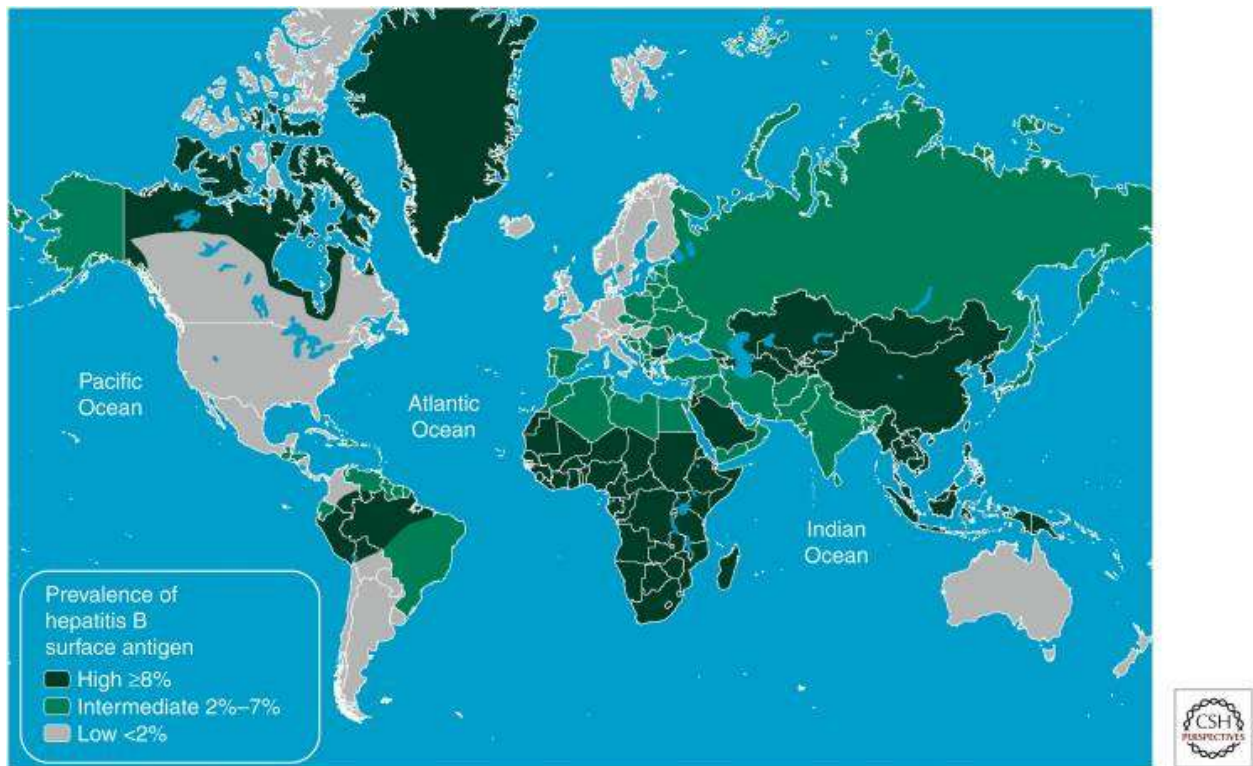
θεραπείας είναι χρήση 3 αντιρετροϊκών παραγόντων με τουλάχιστον 2 διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης ώστε να μην αναπτυχθεί ανοχή. Η χρήση HAART έχει σημαντικές επιπτώσεις και για τη δημόσια υγεία καθώς η πιθανότητα μετάδοσης του HIV από άτομα με μη ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο είναι πολύ μικρή.

1.3 HBV

Ο ιός της ηπατίτιδας Β είναι ένας επικαλυμμένος, ηπατοτρόπος DNA ιός, με μερικώς δίκλωνο χαλαρό κυκλικό DNA, που ανήκει στην ευρύτερη οικογένεια των *hepadnaviridae*. Η λοίμωξη με τον HBV μπορεί να είναι είτε παροδική, δηλαδή με τη μορφή οξείας ηπατίτιδας και ακολούθως να λυθεί, είτε να μεταπέσει σε χρονιότητα. Η οξεία ηπατίτιδα μπορεί σε σπάνιες περιπτώσεις να είναι κεραυνοβόλος θανατηφόρα. Η χρόνια ηπατίτιδα Β ωστόσο είναι ένα παγκόσμιο πρόβλημα της δημόσιας υγείας καθώς συνδέεται με υψηλή νοσηρότητα και θνησιμότητα. Ο παγκόσμιος επιπολασμός της εκτιμάται σε 240 (Ott et al. 2012) έως 350 εκατομμύρια (Lavanchy 2004) ενώ οι θάνατοι που αποδίδονται στην ασθένεια για το 2010 από την Global Burden of Disease Study 2010 (Lozano et al. 2012) υπολογίστηκαν σε 786.000 κυρίως από ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και κίρρωση του ήπατος, κατατάσσοντας την λοίμωξη HBV 15^η ανάμεσα σε όλες τις αιτίες θανάτου (Lozano et al. 2012). Η μετάδοση του ιού γίνεται μέσω έκθεσης σε μολυσμένο αίμα και σωματικά υγρά (συγκεκριμένα σπέρματος και κολπικών εκκρίσεων). Στο σάλιο, το μητρικό γάλα, τον ιδρώτα και τα ούρα παρότι ανιχνεύεται ο ιός, δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να μεταδοθεί μέσω αυτών (Zheng et al. 2011). Ο κύριος τρόπος μετάδοσης παγκοσμίως είναι είτε από τη μητέρα στο νεογνό κατά τον τοκετό, είτε μέσω σεξουαλικής επαφής και κοινής χρήσης βελόνας σε χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών. Στις χώρες που ο ιός είναι ενδημικός η μετάδοση γίνεται περιγεννητικά από τη μητέρα στο νεογνό (κυρίως Ανατολική και ΝΑ Ασία) ή σε νεαρή παιδική ηλικία μέσω ιατρικών πράξεων, παραδοσιακών εθίμων και άμεσης επαφής με αίμα στο σπίτι (κυρίως Αφρική).

Επιδημιολογικά δεδομένα

Η μετάδοση μέσω μολυσμένων προϊόντων αίματος και ιατρικών πράξεων έχει μειωθεί ωστόσο παραμένει σημαντικό πρόβλημα των συστημάτων υγείας (Arankalle et al. 2011; Thompson et al. 2009). Η εκτίμηση της επιδημιολογικής εικόνας ηπατίτιδας Β γίνεται μέσω του επιπολασμού του αντιγόνου επιφανείας (HBsAg) σε ένα πληθυσμό. Στη χώρα μας, ο επιπολασμός για τη χρόνια ηπατίτιδα Β υπολογίζεται σε 2.5-3% του πληθυσμού (Keelrno.gr) και κατατάσσεται στις χώρες με ενδιάμεσο επιπολασμό (Σχήμα 5).



Σχήμα 5 Παγκόσμιος επιπολασμός χρόνιας ηπατίτιδας Β (MacLachlan & Cowie 2015)

Ο υψηλότερος επιπολασμός υπολογίζεται στην δυτική υποσαχάρια Αφρική (έως 12%) και ακολουθείται από την Ανατολική και Νοτιοανατολική Ασία και τις υπόλοιπες περιοχές της υποσαχάριας Αφρικής. Αντίθετα τα χαμηλότερα ποσοστά έχουν η Βόρεια Αμερική και η Δυτική Ευρώπη.

Φυσική ιστορία HBV

Η φυσική ιστορία της χρόνιας HBV λοίμωξης είναι περίπλοκη και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες που σχετίζονται τόσο με τον ξενιστή όσο και με τα ειδικά χαρακτηριστικά του ιού. Φύλο, ηλικία, ανοσοσφρόντη, συνυπάρχουσες λοιμώξεις, αλκοόλ, κάπνισμα και διατροφική αφλατοξίνη είναι τέτοιοι παράγοντες που σχετίζονται με τον ξενιστή (El-Serag & Kanwal 2014; Fattovich et al. 2008; Trépo et al. 2014), ενώ μεταλλάξεις και συγκεκριμένοι γονότυποι είναι χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την επιθετικότητα του ιού και την πιθανότητα εξέλιξης του σε ηπατοκυτταρικό καρκίνο και κίρρωση του ήπατος (Fattovich et al. 2008; Kramvis & Kew 2005; Sunbul 2014) (Πίνακας 1).

Factors associated with progression to cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC) in people living with chronic hepatitis B

Viral factors	High levels of HBV replication Coinfection with hepatitis C, hepatitis D, or HIV Genotype (C > B)
Host factors	Age >40 years and/or longer duration of infection Male sex Presence of cirrhosis (for development of HCC) Race (African, Asian) Family history of HCC
Other factors	Heavy alcohol consumption Aflatoxin exposure Tobacco

Adapted from data in Fattovich et al. (2008), Lok and McMahon (2009), El-Serag (2012), and Trépo et al. (2014).

Πίνακας 1 Παράγοντες που σχετίζονται με μετάπτωση της ηπατίτιδας Β σε ηπατοκυτταρικό καρκίνο (ΗΚΚ) και κίρρωση ήπατος σε άτομα με χρόνια HBV

Τα νεογνά που μολύνονται με HBV έχουν 90% πιθανότητες να αναπτύξουν χρόνια ηπατίτιδα, τα παιδιά 1-5 ετών 25-30%, ενώ οι ανοσολογικά επαρκείς υγιείς ενήλικες μόνο 5% (Fattovich et

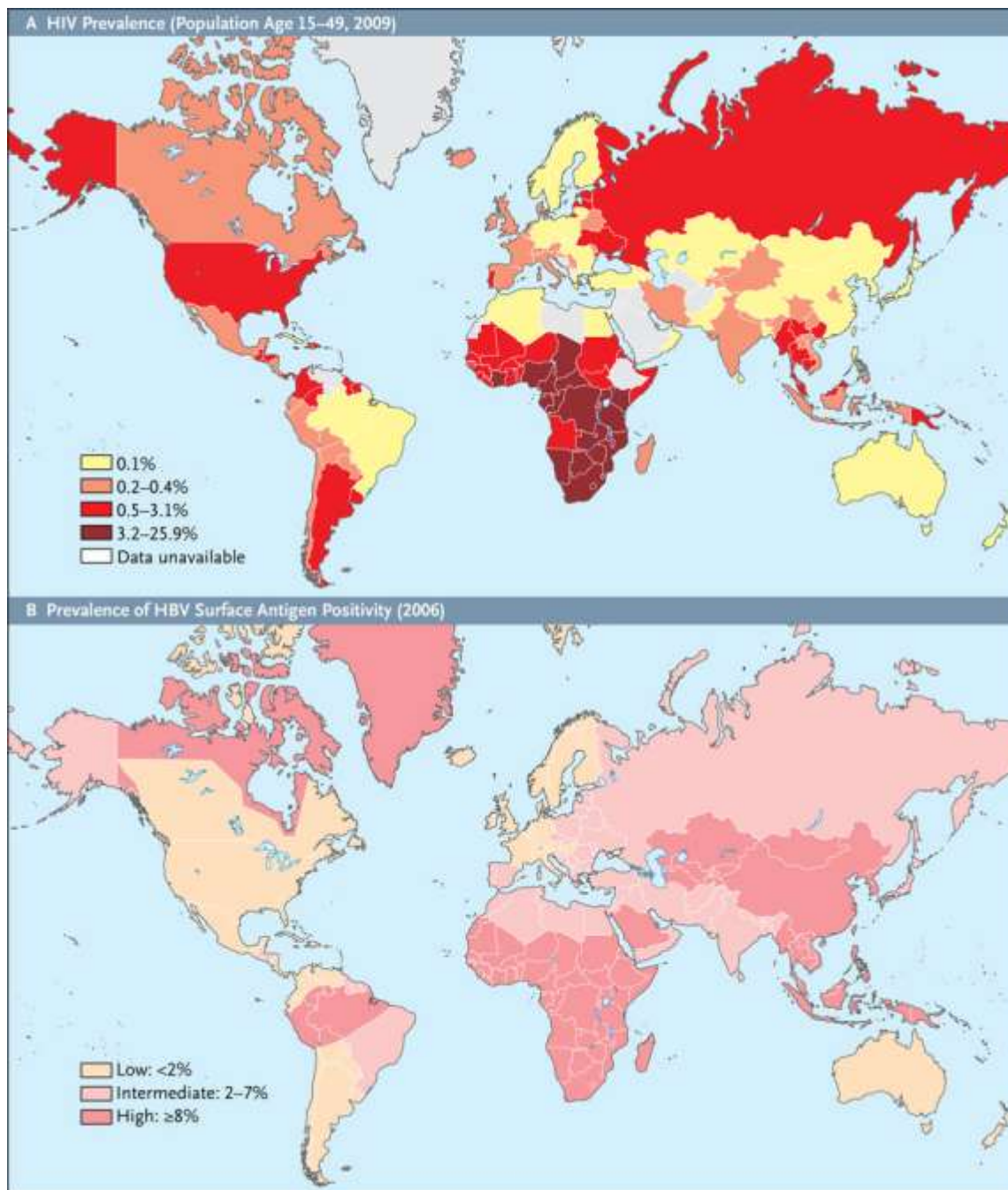
al. 2008; Kramvis & Kew 2005; MacLachlan & Cowie 2015). Στους ασθενείς με λοίμωξη από την πρώιμη ηλικία η εξέλιξη της χρόνιας νόσου ακολουθεί μια σειρά από φάσεις που σχετίζεται με την αλληλεπίδραση της αντιγραφής του ιού και της ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή. Οι φάσεις αυτές είναι : 1)Ανοσιακή ανοχή (immune tolerance)— υψηλή μολυσματικότητα, μικρή ηπατική βλάβη, 2)ανοσιακή κάθαρση (immune clearance)— ποικίλη μολυσματικότητα, ενεργός φλεγμονή του ήπατος, 3)ανοσιακός έλεγχος (immune control)— χαμηλή μολυσματικότητα, μικρή ηπατική βλάβη, 4) ανοσιακή διαφυγή (immune escape)— ποικίλη μολυσματικότητα, υποτροπή φλεγμονής του ήπατος (Tan et al. 2015). Στην πρώιμη ηλικία η λοίμωξη είναι συνήθως ασυμπτωματική (Fattovich et al. 2008). Μελέτες επίσης δείχνουν ότι το ιϊκό φορτίο μετρούμενο ως HBV DNA στον ορό σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για κίρρωση και ΗΚΚ (Chen et al. 2006; Chen et al. 2011; Iloeje et al. 2006).

1.4 HBV/HIV συλλοίμωξη - εμβολιασμός

Λόγω του κοινού τρόπου μετάδοσης των HIV και HBV (Bruguera et al. 1992; Cheruvu et al. 2007; Duberg et al. 2008; Filippini et al. 2007; Kellerman et al. 2003; Thio et al. 2002; Torbenson et al. 2004; Weber et al. 2006; Zarski et al. 1998) η ταυτόχρονη λοίμωξη και με τους δύο ιούς είναι συχνή και συνδέεται με αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα.

Η επίπτωση της οξείας ηπατίτιδας Β στον HIV πληθυσμό είναι πολύ υψηλότερη σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό με 12.2 περιπτώσεις /1000 ανθρωπο-έτη στους HIV ασθενείς έναντι 0.033 περιπτώσεις/1000 ανθρωπο-έτη στον γενικό πληθυσμό (Kellerman et al. 2003). Παράλληλα ο HBV είναι η κύρια αιτία χρόνιων ηπατοπαθειών και ευθύνεται για τους μισούς θανάτους από κίρρωση και ΗΚΚ.

Περίπου 10% από τον HIV-οροθετικό πληθυσμό έχει ταυτόχρονα χρόνια ηπατίτιδα Β (Thio 2009), κυρίως στις περιοχές που οι 2 ιοί έχουν υψηλό επιπολασμό (Αφρική, Ασία). Στις χώρες δε που οι δυο ιοί είναι ενδημικοί (Αφρική, Ασία), το ποσοστό αυτό φτάνει το 25%. Στην Ευρώπη, Β. Αμερική και Αυστραλία η μετάδοση των HBV/HIV γίνεται κυρίως στην εφηβεία και την ενήλικη ζωή μέσω σεξουαλικής επαφής και ενδοφλέβιας χρήσης ναρκωτικών (Thio 2009) και η συχνότητα συλλοίμωξης είναι χαμηλότερη του 10% του HIV πληθυσμού. Όμως περίπου οι μισοί χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών έχουν ταυτόχρονα λοίμωξη HBV. Συνολικά περίπου 3-6 εκατομμύρια HIV μολυσμένων ασθενών παγκοσμίως έχουν ταυτόχρονη λοίμωξη με HBV (Kourtis et al. 2012). Στο σχήμα 6 παρουσιάζεται ο παγκόσμιος επιπολασμός των 2 ιών ανά χώρα σε σύγκριση.

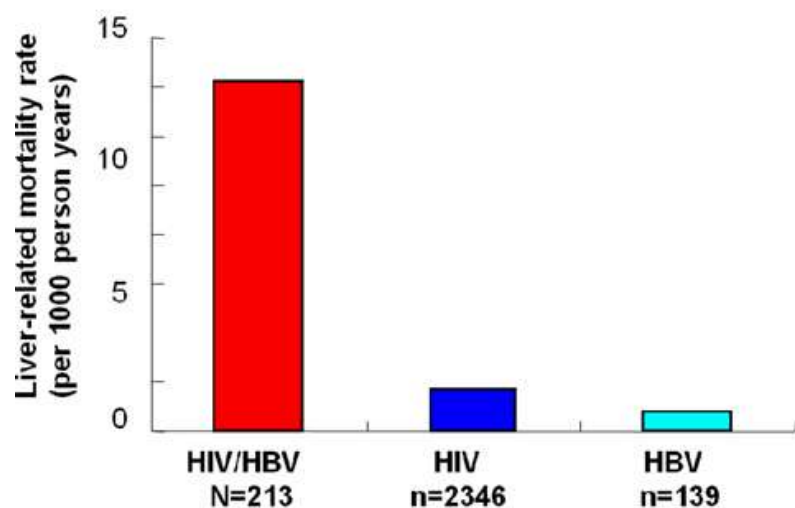


Σχήμα 6 Παγκόσμιος χάρτης με επιπολασμό HIV και HBV (Kourtis et al. 2012)

Στην Ελλάδα το ποσοστό των HIV οροθετικών με ταυτόχρονη χρόνια ηπατίτιδα Β (δηλαδή θετικό HBsAg) φαίνεται να κυμαίνεται στο 6% (Nikolopoulos et al. 2009) ωστόσο υπάρχουν και παλαιότερες μικρότερες μελέτες όπου ο επιπολασμός της χρόνιας ηπατίτιδας Β στους HIV οροθετικούς φτάνει το 12-20% (Dimitrakopoulos et al. 2000; Elefsiniotis et al. 2005).

Η συλλοίμωση αυξάνει την νοσηρότητα και θνησιμότητα σε σχέση με αυτή που προκαλεί ο κάθε ιός ξεχωριστά. Οι ασθενείς με ταυτόχρονη λοίμωξη HBV/HIV έχουν σημαντικά αυξημένη θνητότητα σχετιζόμενη με νόσους του ήπατος (Duberg et al. 2008; Thio et al. 2002; Weber et al. 2006), αρκετά υψηλότερη σε σχέση με τους ασθενείς με ηπατίτιδα Β μόνο. Έχουν σχεδόν 5 φορές υψηλότερη πιθανότητα μετάπτωσης σε χρόνια ηπατίτιδα Β σε σχέση με την μονολοίμωση και υψηλότερο κίνδυνο για κίρρωση και ΗΚΚ (Kourtis et al. 2012).

Σε μία μεγάλη πολυκεντρική μελέτη βρέθηκε ότι οι ασθενείς με HIV/HBV συλλοίμωση είχαν σχεδόν 18 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα θανάτου από ηπατική νόσο σε σχέση με αυτούς που είχαν μόνο HBV, και 8 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα θανάτου από ηπατική νόσο σε σχέση με αυτούς που είχαν μόνο HIV-1 (Thio et al. 2002). Τα παραπάνω δείχνουν την σημαντικότητα της πρόληψης της ηπατίτιδας Β στους ασθενείς με λοίμωξη από HIV (Σχήμα 7).



Σχήμα 7. Θνησιμότητα σχετιζόμενη με ηπατική νόσο σε ασθενείς με HIV και/ή HBV λοίμωξη σε πολυκεντρική μελέτη στη Βαλτιμόρη (Thio et al. 2002). Στη μελέτη βρέθηκε ότι η θνησιμότητα από ηπατική νόσο είναι 1.1/1000 ανθρωπο-έτη, και ήταν υψηλότερη στους άντρες με HIV-1 λοίμωξη και θετικό HBsAg (14.2/1000) σε σχέση με αυτούς που είχαν μόνο HIV-1 λοίμωξη (1.7/1000, $p < 0.001$) ή μόνο θετικό HBsAg (0.8/1000, $p < 0.001$). (Thio et al. 2002)

Επίσης οι ασθενείς με HIV λοίμωξη λόγω της ανοσοκαταστολής μπορούν να χάσουν τα antiHBs αντισώματα από προηγούμενη επαφή με τον ιό, με αποτέλεσμα την επανενεργοποίηση της χρόνιας ηπατίτιδας. Ταυτόχρονα οι HIV θετικοί ασθενείς έχουν χαμηλότερα ποσοστά

ανταπόκρισης στον εμβολιασμό έναντι του HBV σε σχέση με τον υγιή -μη HIV μολυσμένο- πληθυσμό (Yao & Moorman 2013).

Εμβολιασμός

Ο εμβολιασμός έναντι του ιού HBV είναι το πρωταρχικό μέσο για προφύλαξη από τη λοίμωξη και την ηπατοπάθεια που σχετίζεται με αυτή. Όπως προαναφέραμε λόγω του ότι η συλλοίμωξη με τους 2 ιούς αυξάνει σημαντικά την θνησιμότητα που σχετίζεται με ηπατική νόσο, συστήνεται ο εμβολιασμός όλων των HIV οροθετικών ασθενών που δεν έχουν έρθει σε επαφή με τον HBV με κάποιο σχήμα ανοσοποίησης. Παρόλα αυτά η ανταπόκριση στον εμβολιασμό, που προσδιορίζεται ως επίπεδα αντισωμάτων Anti-HBs >10 IU/L (McMahon et al. 2005), είναι σημαντικά χαμηλότερη σε σχέση με τον γενικό υγιή πληθυσμό (20–70% vs. 90–95%) (Yao & Moorman 2013). Η ανταπόκριση αυτή σχετίζεται με την ανοσολογική κατάσταση των ασθενών και παράγοντες που την επηρεάζουν. Για παράδειγμα η μεγάλη ηλικία είναι ένας σημαντικός παράγοντας που σχετίζεται με μειωμένη ανταπόκριση στον εμβολιασμό (Fisman et al. 2002). Στον υγιή πληθυσμό το 90% των ενηλίκων και το 95% των βρεφών δημιουργούν οροπροστατευτικά AntiHBs αντισώματα μετά από πλήρη εμβολιασμό (Kao & Chen 2002; Tsai et al. 2000). Ωστόσο με την πάροδο του χρόνου συχνά τα αντισώματα πέφτουν σε υποπροστατευτικά επίπεδα (<10 IU/L), έως και σε 50% των εμβολιασμών στην 15ετία (Yao & Moorman 2013). Επίσης φαίνεται η ανοσολογική ανταπόκριση στον εμβολιασμό να σχετίζεται με το φύλο, όπου οι γυναίκες έχουν υψηλότερα ποσοστά ανταπόκρισης (Klein 2012).

Η αιτία που ένα ποσοστό του υγιούς πληθυσμού και των HIV μολυσμένων ασθενών (5-10% και 40-60% αντίστοιχα) δεν ανταποκρίνεται στον εμβολιασμό δεν είναι πλήρως κατανοητή αν και υπάρχουν κάποιοι γνωστοί παράγοντες που παίζουν ρόλο: η ηλικία και το φύλο όπως προαναφέραμε, το κάπνισμα, η παχυσαρκία και συγκεκριμένα HLA (human leukocyte antigen) αλληλόμορφα (De Silvestri et al. 2001; Godkin et al. 2005; Langö-Warensjö et al. 1998) είναι τέτοιοι παράγοντες.

Στους HIV οροθετικούς ασθενείς η χαμηλή ανταπόκριση στον εμβολιασμό φαίνεται να σχετίζεται με τον αριθμό των CD4+ λεμφοκυττάρων, αν και μελέτες δείχνουν ότι τα ποσοστά ανταπόκρισης στους HIV ασθενείς και με υψηλά CD4+ κύτταρα (> 200 ή 500 cells/mm³) είναι χαμηλότερα από τα αντίστοιχα στον υγιή πληθυσμό (Shafran et al. 2007). Παράλληλα το φαινόμενο χαμηλής ανταπόκρισης του HIV πληθυσμού στην ανοσοποίηση έχει επίσης βρεθεί ότι συμβαίνει και με άλλα εμβόλια όπως αυτά έναντι της γρίπης, της ηπατίτιδας Α και του πνευμονιοκόκκου (Malaspina et al. 2005; Rodriguez-Barradas et al. 2003). Αντίστοιχα φαινόμενα - δηλαδή χαμηλής ανταπόκρισης σε εμβολιασμό- έχει παρατηρηθεί ότι συμβαίνουν και σε άλλες καταστάσεις ανοσοκαταστολής (μεταμοσχεύσεις, χημειοθεραπεία, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια).

Καθώς η ανοσοποίηση έναντι του HBV στους HIV οροθετικούς είναι αναγκαία, διάφοροι τρόποι έχουν προταθεί στη βιβλιογραφία ώστε να βελτιωθούν τα ποσοστά ανταπόκρισης στον εμβολιασμό: Διαφορετικές οδοί χορήγησης (υποδόρια και ενδοδερμική), υψηλότερες ή περισσότερες δόσεις εμβολίου ή συνδυασμός αυτών και χορήγηση πρόσθετων όπως αυξητικό παράγοντα GM-CSF (Chaiklang et al. 2013; Jacques et al. 2002; Kim et al. 2003; Launay et al. 2016; Nyström et al. 2008; Potsch et al. 2012; Rahman et al. 2000; das Graças Sasaki et al. 2003). Γενικά η συνιστώμενη δοσολογία εμβολιασμού στον γενικό πληθυσμό είναι 20μg σε τρεις δόσεις (με τις επαναληπτικές δόσεις να γίνονται τον 1ο και 6ο μήνα μετά την πρώτη δόση) όμως το σχήμα αυτό δίνει μάλλον χαμηλότερα ποσοστά ανταπόκρισης στον HIV οροθετικό πληθυσμό με μεγάλες όμως αποκλίσεις. Συγκεκριμένα 3 μεγάλες κλινικές δοκιμές έδειξαν ποσοστά ανταπόκρισης από 34-88.6% (Chaiklang et al. 2013; Fonseca et al. 2005; Launay et al. 2011). Τα ευρήματα από τη βιβλιογραφία φαίνεται να δείχνουν ότι η υψηλότερη δοσολογία ή οι περισσότερες δόσεις εμβολιασμού φαίνεται να έχουν καλύτερα αποτελέσματα ανοσοποίησης σε σχέση με το καθιερωμένο εμβολιαστικό σχήμα. Η BHIVA (British HIV Association) μάλιστα συστήνει επίσημα των εμβολιασμό των HIV οροθετικών ασθενών με 4 δόσεις (0,1,2,6 μήνες) των 40mcg (Geretti et al. 2016). Στην παρούσα μελέτη θέλουμε να αξιολογήσουμε την αποτελεσματικότητα του εμβολιαστικού σχήματος με 40mcg σε 3 δόσεις, σε ασθενείς υπό αντιρετροϊκή θεραπεία με καλή ανοσολογική κατάσταση -δηλαδή CD4+

κύτταρα >200- και μη ανιχνεύσιμο ιϊκό φορτίο (HIV RNA <20 copies/ml) έναντι του κλασικού σχήματος με 20mcg με 3 δόσεις.

Τα εμπορικά διαθέσιμα εμβόλια στην Ελλάδα έναντι του HBV για ενήλικες είναι τα παρακάτω:

Engerix (GlaxoSmithKline, Brentford, United Kingdom) 20μg HBsAg

HBVaxPRO (Sanofi Pasteur MSD SNC, France) 10μg HbsAg

HBVaxPRO (Sanofi Pasteur MSD SNC, France) 40μg HbsAg

Επίσης τα κάτωθι εμπορικά σκευάσματα κυκλοφορούν παγκοσμίως αλλά όχι στην Ελλάδα:

Fendrix (GlaxoSmithKline, Belgium) 20μg plus MPL 50 mcg

Recombivax HB (Merck, USA) 10μg HbsAg

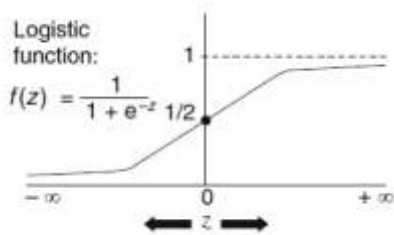
Twinrix (GlaxoSmithKline, Belgium) 20 μg plus 720 ELISA units of inactivated HAV.

Στην μελέτη μας υπήρχαν δύο ομάδες HIV-οροθετικών ατόμων. Η μία ομάδα εμβολιάστηκε με Engerix (GlaxoSmithKline, Brentford, United Kingdom) 20μg και η άλλη με HBVaxPRO (Sanofi Pasteur MSD SNC, France) 40μg.

1.5 Λογιστική παλινδρόμηση (Kleinbaum & Klein 2010; Hosmer Jr et al. 2013)

Η λογιστική παλινδρόμηση είναι μία μέθοδος ανάλυσης δεδομένων, προέκταση της γραμμικής παλινδρόμησης, όπου η εξαρτημένη μεταβλητή είναι διακριτή και παίρνει 2 -ή και περισσότερες- τιμές. Ανήκει στη γενικότερη κατηγορία των γενικευμένων γραμμικών μοντέλων και χρησιμοποιείται για να συσχετίσουμε μία διακριτή έκβαση (outcome) με ανεξάρτητες μεταβλητές (covariates) που μπορεί να είναι συνεχείς ή κατηγορικές. Συνήθως, όπως και στην περίπτωση της εφαρμογής της στη μελέτη μας, η εξαρτημένη μεταβλητή είναι μία δίτιμη μεταβλητή (0 ή 1), που αντιπροσωπεύει την αποτυχία/επιτυχία σε μία έκβαση που μελετάμε, πχ εμφάνιση μίας νόσου ή όχι, ανταπόκριση ή όχι σε μία θεραπεία κλπ. Για παράδειγμα στη μελέτη μας η μεταβλητή ενδιαφέροντας μας είναι η ανταπόκριση (response) στον εμβολιασμό για την ηπατίτιδα Β και παίρνει την τιμή 0 αν ο ασθενής δεν ανέπτυξε προστατευτικά αντισώματα και 1 αν ανέπτυξε τα αντισώματα. Στόχος είναι να διερευνήσουμε αν τα διαφορετικά εμβολιαστικά σχήματα, αφού ελέγξουμε για πιθανές συγχυτικές επιδράσεις άλλων γνωστών προγνωστικών παραγόντων, σχετίζονται με την πιθανότητα ανταπόκρισης.

Στην απλή γραμμική παλινδρόμηση η μαθηματική μορφή της οποίας είναι $E(Y|x) = \beta_0 + \beta_1 x$, η ποσότητα $E(Y|x)$ εκφράζει την αναμενόμενη μέση τιμή του Y δεδομένης μίας τιμής της ανεξάρτητης μεταβλητής x και υποθέτει από τη μαθηματική της μορφή ότι υπάρχει γραμμική συσχέτιση της Y με την x . Παράλληλα αυτή η μαθηματική εξίσωση υποδηλώνει ότι η ποσότητα $E(Y|x)$ μπορεί να πάρει οποιαδήποτε τιμή από $-\infty$ έως $+\infty$. Όταν η Y είναι διακριτή αυτό δεν ισχύει καθώς μπορεί να πάρει μόνο την τιμή 1 (με πιθανότητα θ) και την τιμή 0 (με πιθανότητα $1-\theta$), δηλαδή η Y είναι μία δίτιμη Bernoulli μεταβλητή. Στην περίπτωση αυτή χρησιμοποιούμε την λογιστική συνάρτηση (logistic function) $f(z)$ που έχει την μορφή που παρατίθεται στο σχήμα 8:



Σχήμα 8 Γραφική παράσταση της λογιστικής συνάρτησης

Όπως παρατηρούμε η συνάρτηση αυτή παίρνει τιμή 0 όταν το z τείνει στο $-\infty$ και 1 όταν το z τείνει στο $+\infty$, δηλαδή το $f(z)$ παίρνει τιμές από 0 έως 1 για κάθε τιμή του z . Πρόκειται επομένως για μία συνάρτηση σχεδιασμένη για την περιγραφή πιθανοτήτων αφού $0 \leq f(z) \leq 1$. Αν αντικαταστήσουμε στη θέση του z με το γραμμικό εκτιμητή, δηλαδή το γραμμικό άθροισμα των ανεξάρτητων μεταβλητών x (δηλαδή $\beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 \dots = \beta_0 + \sum \beta_i x_i$) παίρνουμε τη συνάρτηση: $f(z) = \frac{1}{1+e^{-z}} = \frac{1}{1+e^{-(\beta_0 + \sum \beta_i x_i)}}$. Εμείς ως συνάρτηση $f(z)$ ορίζουμε την πιθανότητα θ ή $P(Y=1 | x_1, x_2, \dots, x_k)$ δηλαδή την πιθανότητα η μεταβλητή Y να πάρει την τιμή 1 δεδομένων των μεταβλητών x . Με άλλα λόγια την πιθανότητα για επιτυχή έκβαση (ή ναι ή να εμφανίσει τη νόσο). Τα $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_k$ είναι άγνωστοι παράμετροι που θέλουμε να εκτιμήσουμε από τα δεδομένα μας ώστε να βρούμε την πιθανότητα P . Για την εκτίμηση των $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_k$ χρησιμοποιούμε τη μέθοδο της μεγίστης πιθανοφάνειας.

Μπορεί στη συνέχεια να οριστεί η αντίστροφη της λογιστικής συνάρτησης χρησιμοποιώντας τον logit μετασχηματισμό (logit transformation) της συνάρτησης μας. Ο μετασχηματισμός αυτός (logit $\theta(x)$) είναι ο φυσικός λογάριθμος $\ln\left\{\frac{\theta(x)}{1-\theta(x)}\right\}$ όπου $\theta(x)$ όπως προαναφέραμε είναι η συνάρτηση (πιθανότητα) $\theta(x) = \frac{1}{1+e^{-(\beta_0 + \sum \beta_i x_i)}} = \frac{e^{\beta_0 + \beta_1 x}}{1+e^{\beta_0 + \beta_1 x}}$. Ο λόγος $\frac{\theta(x)}{1-\theta(x)}$ ή $\frac{\pi}{1-\pi}$ είναι τα odds για επιτυχία, δηλαδή η πιθανότητα για επιτυχία προς την πιθανότητα για αποτυχία. Μετά από λίγες πράξεις καταλήγουμε ότι το logit $\theta(x)$ ισούται με το γραμμικό συνδυασμό των x . Δηλαδή $\ln\left\{\frac{\theta(x)}{1-\theta(x)}\right\} = \beta_0 + \sum \beta_i x_i$. Ο μετασχηματισμός μας δίνει το log odds για επιτυχία ως γραμμικό ανάλογο των x . Αν θέσουμε $\sum \beta_i x_i = 0$ τότε το logit $\theta(x) = \beta_0$. Συνεπώς το β_0 αντιπροσωπεύει τα log odds για επιτυχία σε έναν ασθενή που έχει όλα τα $x=0$ ή καλύτερα τα baseline odds. Το β_i , όταν

η ανεξάρτητη μεταβλητή είναι συνεχής όπως για παράδειγμα η ηλικία, δείχνει την μεταβολή στα log odds για μία μονάδα αύξησης της μεταβλητής x_i όταν οι άλλες μεταβλητές X είναι σταθερές. Όταν η ανεξάρτητη μεταβλητή είναι δίτιμη, όπως το εμβολιαστικό σχήμα, μας δείχνει το λογάριθμο του odds ανταπόκρισης στην τιμή 1 (π.χ. του εμβολιαστικού σχήματος υπό έλεγχο) προς το odds ανταπόκρισης όταν το $x=0$ (π.χ. για το εμβολιαστικό σχήμα αναφοράς). Ο αντιλογάριθμος του β_i μας δίνει το σχετικό λόγο (odds ratio, OR), το οποίο είναι ο λόγος δύο odds (πηλίκο συμπληρωματικών πιθανοτήτων) p_x μεταξύ δύο ομάδων. Για παράδειγμα το OR όταν συγκρίνουμε δυο ομάδες όπως αυτές καθορίζονται από τη δίτιμη μεταβλητή X (ας πούμε 0 και 1) είναι το $OR_{x1 \ x0} = \frac{Odds \ X1}{Odds \ X0}$. Δηλαδή $\frac{Odds \ X1}{Odds \ X0} = \frac{P(X1)}{1-P(X1)} / \frac{P(X0)}{1-P(X0)}$. Αντικαθιστώντας $P(X) = \frac{1}{1+e^{-(\beta_0+\sum\beta_i x_i)}}$ καταλήγουμε ότι $OR_{x1 \ x0} = e^{\beta (X1-X0)}$. Άρα ο αντιλογάριθμος του συντελεστή β μας δίνει το odds ratio δηλαδή την αναλογία odds για την ανάπτυξη p_x μιας νόσου μεταξύ των δύο ομάδων μιας μεταβλητής X , διορθωμένο (adjusted) για τις άλλες μεταβλητές X_i . Άρα μας δείχνει πόσο αυξημένα (ή μειωμένα ανάλογα με το αν το OR είναι μεγαλύτερο ή μικρότερο του 1) είναι τα odds σε άτομα με $x=1$ συγκριτικά με τα odds ατόμων με $x=0$ ανεξάρτητα από τις υπόλοιπες μεταβλητές του μοντέλου. Όταν η μεταβλητή x είναι συνεχής, το OR μας δείχνει πόσο αυξάνονται (ή μειώνονται αντίστοιχα) τα odds ανταπόκρισης ανά μία μονάδα αύξησης της μεταβλητής x , κρατώντας σταθερές όλες τις άλλες μεταβλητές του μοντέλου.

Στην γραμμική παλινδρόμηση η εκτίμηση των β γίνεται με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Στη μέθοδο αυτή επιλέγονται τα β εκείνα που ελαχιστοποιούν το άθροισμα των τετράγωνων των αποστάσεων των παρατηρούμενων τιμών της εξαρτημένης μεταβλητής Y από τις τιμές που προβλέπονται από το μοντέλο. Κάτω από τις υποθέσεις της γραμμικής παλινδρόμησης αυτοί οι εκτιμητές των β έχουν τις κατάλληλες στατιστικές ιδιότητες που θέλουμε. Όταν όμως η εξαρτημένη μας μεταβλητή είναι διακριτή της μορφής 0,1 (dichotomous data) η εφαρμογή της μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων δεν δίνει εκτιμητές με αυτές τις ιδιότητες. Στην περίπτωση αυτή ο τρόπος που εκτιμούμε τα β , όπως προείπαμε, γίνεται με τη μέθοδο της μέγιστης πιθανοφάνειας (maximum likelihood). Η μέθοδος μέγιστης πιθανοφάνειας δίνει τιμές για τις άγνωστες παραμέτρους β οι οποίες μεγιστοποιούν την από

κοινού πιθανότητα (ή πιθανοφάνεια) να παρατηρήσουμε τα δεδομένα που έχουμε συλλέξει. Η συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας της Y για κάθε παρατήρηση είναι η $f(y_i; \beta)$ όπου β οι παράμετροι προς εκτίμηση. Με δεδομένο, την βασική υπόθεση στα γενικευμένα γραμμικά μοντέλα, ότι οι παρατηρήσεις μας είναι ανεξάρτητες (κάτι που πχ δεν ισχύει σε επαναλαμβανόμενες μετρήσεις και χρονοσειρές) η από κοινού συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας είναι το γινόμενο $L(\beta; y) = \prod_{i=1}^n f_i(y_i; \beta)$. Η συνάρτηση αυτή ονομάζεται πιθανοφάνεια και είναι μια συνάρτηση των β για συγκεκριμένα δεδομένα Y . Ο παράγων β (που μπορεί να είναι διάνυσμα) που μεγιστοποιεί αυτή τη συνάρτηση είναι ο εκτιμητής μεγίστης πιθανοφάνειας. Για τους μαθηματικούς υπολογισμούς είναι ευκολότερο και χρησιμοποιείται ο λογάριθμος της πιθανοφάνειας οπότε αντί για γινόμενο έχουμε το άθροισμα $l(\beta; y) = \log L(\beta; y) = \sum_{i=1}^n f_i(y_i; \beta)$. Για να καταλήξουμε στον εκτιμητή μεγίστης πιθανοφάνειας (maximum likelihood estimator - MLE) θέτουμε την πρώτη παράγωγο της συνάρτησης $\frac{\partial l(\beta)}{\partial \beta} = 0$ και λύνουμε ως προς β . Εφόσον η δεύτερη παράγωγος είναι γενικά αρνητική αξιολογημένη στον εκτιμητή $\hat{\beta}$ που βρήκαμε, τότε αυτός ο εκτιμητής είναι μεγίστης πιθανοφάνειας (MLE), δηλαδή η τιμή που μεγιστοποιεί τη συνάρτηση πιθανοφάνειας.

Αφού εκτιμήσουμε τους συντελεστές β πρέπει να βρούμε αν οι ανεξάρτητες μεταβλητές X του μοντέλου που έχουμε εφαρμόσει είναι στατιστικά σημαντικές δηλαδή αν όντως σχετίζονται με την εξαρτημένη μας μεταβλητή Y . Με άλλα λόγια αν η προσθήκη μιας μεταβλητής X στο μοντέλο μας δίνει σημαντικά περισσότερη πληροφορία σε σχέση με το να μην υπάρχει στο μοντέλο. Το μοντέλο που περιλαμβάνει όλες τις μεταβλητές X που έχουμε στα δεδομένα ονομάζεται κορεσμένο (saturated), ενώ το μοντέλο χωρίς μεταβλητές X ονομάζεται μηδενικό (null). Κάθε μοντέλο με λιγότερες μεταβλητές από το saturated μοντέλο που αποτελεί υποσύνολο αυτού (δηλαδή μπορεί να προέλθει από το saturated) λέγεται nested. Ένα μέτρο σύγκρισης 2 μοντέλων με διαφορετικό αριθμό μεταβλητών X είναι ο λόγος των πιθανοφανειών (likelihood ratio test): $\lambda = \frac{L(\beta_1)}{L(\beta_2)}$ όπου β_1 και β_2 είναι οι εκτιμητές μεγίστης πιθανοφάνειας των δύο μοντέλων. Προϋπόθεση είναι το ένα μοντέλο να αποτελεί υποσύνολο του δεύτερου (nested). Η ποσότητα $-2 \log \lambda$ ακολουθεί την χ^2 κατανομή με v βαθμούς ελευθερίας, όπου v η διαφορά στις διαστάσεις των 2 μοντέλων.

Ένα άλλο ισοδύναμο τεστ ελέγχου είναι το Wald test. Το τεστ αυτό είναι ο λόγος του εκτιμητή MLE β που βρήκαμε με το εκτιμώμενο τυπικό του σφάλμα: $W = \frac{\beta}{SE(\beta)}$. Ο λόγος αυτός υπό τη μηδενική υπόθεση ($\beta=0$) ακολουθεί την τυποποιημένη κανονική κατανομή Z. Βασισμένα σε αυτό κατασκευάζονται και τα διαστήματα εμπιστοσύνης των β από τον τύπο $\beta \pm Z_{1-\alpha/2}SE(\beta)$ όπου $Z_{1-\alpha/2}$ είναι το άνω $100(1-\alpha/2)\%$ σημείο της τυποποιημένης κανονικής κατανομής και $SE(\beta)$ το υπολογισμένο από το μοντέλο στατιστικό σφάλμα του αντίστοιχου εκτιμητή β .

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΜΕΛΕΤΗΣ

2.1 Μέθοδοι

2.1.1 Σχεδιασμός

Η συγκεκριμένη μελέτη είναι μία προοπτική μελέτη ομάδας HIV οροθετικών ασθενών που παρακολουθούνται στη μονάδα HIV/AIDS του Νοσοκομείου «Ανδρέας Συγγρός» και αφορά εμβολιασμούς έναντι HBV που πραγματοποιήθηκαν το χρονικό διάστημα 2012-2016. Οι ασθενείς εμβολιάστηκαν με 3 δόσεις, είτε των 20μg, είτε των 40μg. Οι επαναληπτικές δόσεις έγιναν στον 1ο και 6ο μήνα μετά την 1^η δόση, ενώ οι μετρήσεις των αντισωμάτων anti-HBs έγιναν στον 1^ο, τον 12^ο και τον 24^ο μήνα από την τελευταία δόση (με chemiluminescent immunoassay method, Architect i-system, Abbott, Ireland). Η ομάδα εμβολιασμού στην οποία εντάχθηκαν οι ασθενείς έγινε τυχαία, δηλαδή χωρίς να ληφθούν υπόψη τα χαρακτηριστικά του ατόμου, αλλά η μελέτη δεν αποτελεί τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή. Κατά την προσέλευσή τους στο ιατρείο της μονάδας HIV/AIDS του Νοσοκομείου «Ανδρέας Συγγρός» οι ασθενείς εντάχθηκαν σε μία από τις δύο ομάδες εμβολιασμού, εφόσον πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης, τα οποία ήταν: 1. Απουσία ιστορικού λοίμωξης HBV ή ανοσοποίησης στον ιό ή παλαιότερου εμβολιασμού για HBV, το οποίο ελέγχθηκε με κατάλληλα τεστ αίματος, 2. CD4 T-

λεμφοκύτταρα >200 / μL , 3. Λήψη HAART αντιρετροϊκής αγωγής (δηλαδή όλοι οι ασθενείς ήταν υπό αντιρετροϊκή αγωγή), και 4. Μη ανιχνεύσιμο ιϊκό φορτίο εντός του τελευταίου εξαμήνου πριν την πρώτη δόση του εμβολίου δηλαδή HIV RNA <20 copies/ml (που επιβεβαιώθηκε με τεστ NASBA, NucliSENS Easy Q HIV-1 V2.0, bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Επομένως όλοι οι ασθενείς βρίσκονταν υπό επιτυχή αντιρετροϊκή αγωγή, με μη ανιχνεύσιμο ιϊκό φορτίο και δεν είχαν έρθει ποτέ σε επαφή με HBV ούτε είχαν εμβολιαστεί στο παρελθόν. Όλοι οι ασθενείς υπέγραψαν ενημερωμένη συγκατάθεση για την ένταξή τους στην μελέτη. Δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες που να σχετίζονται με τον εμβολιασμό.

2.2.2 Σκοπός

Στην παρούσα μελέτη ο σκοπός ήταν να διερευνηθεί αν η δόση 40mcg εμβολίου υπερτερεί έναντι του καθιερωμένου δοσολογικού σχήματος στο ποσοστό ανταπόκρισης (ορομετατροπής -response-) και άρα στην προστασία έναντι του ιού της ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με HIV. Αυτό έγινε σε 3 επίπεδα: Πρώτον συγκρίθηκαν τα ποσοστά των ατόμων, μεταξύ των δύο ομάδων, που είχαν προστατευτικά αντισώματα στις χρονικές στιγμές που αυτά μετρήθηκαν. Δεύτερον διενεργήθηκε λογιστική παλινδρόμηση για διερεύνηση των παραγόντων που επηρεάζουν την ανταπόκριση στον μήνα 1 μετά την ολοκλήρωση του εμβολιασμού, και τρίτον συγκρίθηκαν τα επίπεδα των τίτλων των αντισωμάτων (anti-HBs) των ατόμων που απέκτησαν ορομετατροπή - δηλαδή που είχαν ανταπόκριση- σε κάθε χρονική στιγμή, μέσω της γεωμετρικής μέσης τιμής (GMT).

2.2.3 Στατιστική ανάλυση

Για την στατιστική ανάλυση δημιουργήθηκε αρχικά η δίτιμη μεταβλητή «response» με βάση τα αντισώματα στον μήνα 1 μετά την τελευταία δόση του εμβολίου. Στη μεταβλητή αυτή πήραν τιμή 0 όσοι ασθενείς είχαν επίπεδα αντισωμάτων <10 IU/l και 1 όσοι είχαν ≥ 10 IU/l. Αντίστοιχα το ίδιο έγινε και για τους μήνες 12 και 24.

Αρχικά έγινε σύγκριση των ποσοστών που είχαν ανταπόκριση στους μήνες 1, 12 και 24 μεταξύ των 2 ομάδων με τεστ χ^2 . Ακολούθησε λογιστική παλινδρόμηση για την εξαρτημένη μεταβλητή «response» στον μήνα 1, όπου ελέγχθηκαν όλες οι μεταβλητές που μετρήθηκαν στην μελέτη. Οι ανεξάρτητες μεταβλητές που ελέχθησαν είναι η ηλικία την στιγμή του εμβολιασμού, το φύλο, το κάπνισμα, ο δείκτης μάζας σώματος (BMI), το ιστορικό ευκαιριακής λοίμωξης, συνύπαρξη λοίμωξης HCV, η βάση της HAART αντιρετροϊκής αγωγής, ο απόλυτος αριθμός CD4, τα ναδίρ CD4, ο λόγος CD4/CD8 και η δίτιμη μεταβλητή που καταδεικνύει την ομάδα εμβολίου. Το φύλο, το κάπνισμα, το ιστορικό HCV, το ιστορικό ευκαιριακής λοίμωξης και η βάση της HAART αντιρετροϊκής αγωγής ήταν κατηγορικές μεταβλητές. Ηλικία, BMI, απόλυτος αριθμός CD4, τα ναδίρ CD4 και ο λόγος CD4/CD8 ήταν συνεχείς μεταβλητές.

Η HAART αντιρετροϊκή αγωγή αποτελείται από δύο βασικά (backbone) αντιρετροϊκά που είναι συνήθως της κατηγορίας NRTIs και ένα τρίτο φάρμακο της συνδυαστικής θεραπείας που καθορίζει/κατηγοριοποιεί την αντιρετροϊκή θεραπεία και μπορεί να είναι είτε NNRTI, είτε PI, ή INSTI. Επομένως η HAART χρησιμοποιήθηκε ως κατηγορική μεταβλητή με 3 επίπεδα. Ναδίρ CD4 T-λεμφοκύτταρα είναι τα χαμηλότερα επίπεδα που είχε ο ασθενής στο ιστορικό του. Η μεταβλητή «ιστορικό ευκαιριακής λοίμωξης» ή καταστάσεις που ορίζουν το AIDS (AIDS defining conditions) περιλαμβάνει διάφορες κλινικές καταστάσεις, λοιμώξεις και κακοήθειες που σχετίζονται με το AIDS.

Τα μοντέλα της λογιστικής παλινδρόμησης που επιλέχθηκαν ελέχθησαν για την καλή προσαρμογή (goodness of fit) στα δεδομένα με το τεστ Hosmer-Lemeshow.

Τέλος με λογαριθμικό μετασχηματισμό των τίτλων αντισωμάτων βρέθηκαν οι γεωμετρικές μέσες τιμές σε κάθε χρονική στιγμή και συγκρίθηκαν με απαραμετρικό Wilcoxon rank-sum τεστ.

Στο δείγμα μας υπήρχαν ελάχιστες ελλείπουσες τιμές, οι οποίες δεν επηρέασαν την ανάλυση. Συγκεκριμένα υπήρχε μία ελλείπουσα στη μεταβλητή «αντιρετροϊκή αγωγή» και μία στην «CD4/CD8». Επίσης υπήρχαν δύο ελλείπουσες στην ακριβή ημερομηνία εμβολιασμού η οποία διορθώθηκε κατάλληλα καθώς όλοι ασθενείς ήταν γνωστό ότι εμβολιάστηκαν το διάστημα

2012-2016. Τέλος υπήρχαν 5 ασθενείς στους οποίους δεν μετρήθηκαν οι τίτλοι αντισωμάτων στον μήνα 1, όμως στην μέτρηση που έγινε στον μήνα 12 είχαν όλοι AntiHBs \geq 10IU/l και κατατάχθηκαν στους ασθενείς με θετική απόκριση στον εμβολιασμό (responders) καθώς τα αντισώματα μειώνονται με την πάροδο του χρόνου.

Η ανάλυση έγινε με το λογισμικό STATA software version 11.

2.2 Αποτελέσματα

Από τους 197 ασθενείς που εντάχθηκαν στη μελέτη οι 134 εμβολιάστηκαν με Engerix (20 mcg) και οι 63 με HBVAXPRO (40mcg). Τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα 2 ανά ομάδα εμβολιασμού. Η συντριπτική πλειοψηφία της μελέτης είναι άνδρες (93%) εκ των οποίων η πλειοψηφία ΑΣΑ και η μέση ηλικία (Σταθερή απόκλιση: SD) τα 44 (9.2) έτη. Περίπου οι μισοί είναι καπνίζοντες (90/197) ενώ το μέσο BMI (SD) είναι 24.9 (2.9). Οι μισοί περίπου ασθενείς λαμβάνουν ως 3^ο αντιρετροϊκό παράγοντα αναστολέα πρωτεάσης. Από τη μελέτη του πίνακα παρατηρούμε ότι υπήρξαν διαφοροποιήσεις στις δύο ομάδες σε κάποια χαρακτηριστικά των ασθενών παρότι έγινε τυχαία η επιλογή της ομάδας.. Αυτά είναι η ηλικία όπου η ομάδα που έλαβε δόση 20μg (Engerix) είναι κατά μέσο όρο νεότερη (μέση ηλικία 42.6 έτη έναντι 47 στην ομάδα 40 μg -HBVaxPro-), ενώ τα ναδίρ CD4 είναι κατά μέσο όρο χαμηλότερα στην ομάδα διπλής δόσης εμβολίου (242 CD4 /μL έναντι 319). Οι διαφορές αυτές παρατηρήθηκαν γιατί η μελέτη δεν ήταν τυχαιοποιημένη. Στα υπόλοιπα χαρακτηριστικά οι δύο ομάδες δεν διέφεραν σημαντικά. Επίσης υπήρχαν μόνο 2 ασθενείς από τους 197 που είχαν συλλοίμωση με ηπατίτιδα C και αναφέρεται για επιδημιολογικούς σκοπούς καθώς η εν λόγω μεταβλητή δεν συμπεριλήφθηκε στην ανάλυση. Στην παρούσα μελέτη 27 ασθενείς είχαν θετικό ιστορικό ευκαιριακής λοίμωξης/καταστάσεις που ορίζουν το AIDS. Αυτές ήταν πνευμονία *Pneumocystis jirovecii*, καντιντίαση οισοφάγου, υποτροπιάζουσα πνευμονία (δηλαδή τουλάχιστον δύο επεισόδια σε ένα έτος) και βλενογοννοδερματικό έρπητα (ερπητικό έλκος για πάνω από ένα μήνα) καθώς και το σάρκωμα Kaposi.

Τέλος μετρήθηκαν τα αντισώματα έναντι του ιού HBV (AntiHBs) στον 1^ο, 12^ο και 24^ο μήνα από την τελευταία δόση εμβολίου που αποτελούν και την εξαρτημένη μεταβλητή της συγκεκριμένης ανάλυσης.

Πίνακας 2 Περιγραφικά χαρακτηριστικά ασθενών

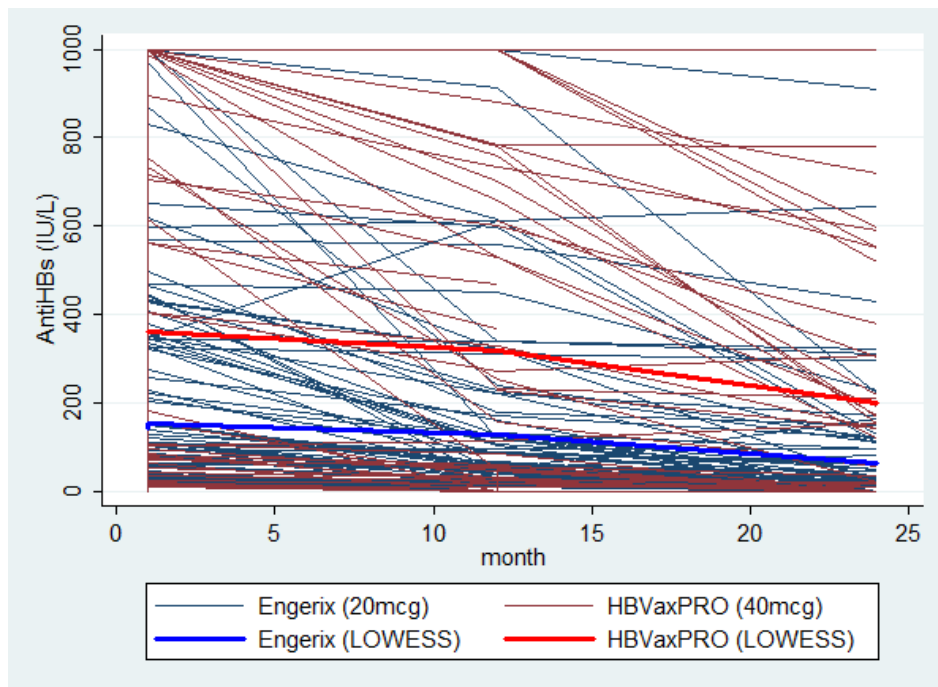
Χαρακτηριστικά ασθενών	Ομάδα HBVaxPro N=63	Ομάδα Enderix N=134	p-value
Ηλικία (Μέση τιμή (SD), έτη)	47.0 (9.4)	42.6 (8.8)	p = 0.002
Φύλο Άντρες Γυναίκες	61 (97%) 2 (3%)	122 (91%) 12 (9%)	p = 0.141
Κάπνισμα Ναι Όχι	28 (44%) 35 (56%)	62 (46%) 72 (54%)	p = 0.811
HCV Ναι Όχι	0 (0%) 63 (100%)	2 (1.5%) 132 (98.5%)	p = 0.330
BMI (Μέση τιμή (SD), Kg/m ²)	25.2 (2.7)	24.8 (18.2 - 32.1)	p = 0.352
Ευκαιριακή λοίμωξη Ναι Kaposi's sarcoma Pn. jirovecii Candidiasis, eosophageal Pneumonia, recurrent Herpes, mucocutaneous Όχι	10(16%) 3 2 4 - 1 53 (84%)	17 (13%) 4 4 6 2 1 117 (87 %)	p = 0.544
Αντιρετροϊκή αγωγή (HAART) Βασισμένη σε PI Βασισμένη σε NNRTI Βασισμένη σε INSTI	30 (48%) 17 (27%) 16 (25%)	68 (51%) 38 (29%) 27 (20%)	p = 0.723
CD4 κατά τον εμβολιασμό (Διάμεση τιμή (IQR), cells/μl)	636 (461- 873)	591 (450 - 725)	p =0.160
Ναδύρ CD4 (Διάμεση τιμή (IQR), cells/μl)	242 (181 - 376)	319.5 (233 - 402)	p =0.037

CD4/CD8 (Διάμεση τιμή (IQR))	0.66 (0.528– 0.921)	0.63(0.465 –.0898)	p = 0.249
------------------------------	---------------------	--------------------	-----------

Σημειώσεις: Οι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται με τον απόλυτο αριθμό και το ποσοστό. Από τις συνεχείς μεταβλητές η ηλικία και το BMI με την μέση τιμή και τη διακύμανση ενώ τα CD4 /μL κατά τον εμβολιασμό, τα Ναδύρ CD4 και ο λόγος CD4/CD8 με διάμεσες τιμές και ενδοτεταρτημοριακό εύρος (IQR - interquartile range).

Ακρωνύμια: HAART = Highly Active Antiretroviral Therapy, PI = Protease Inhibitors, NNRTI = Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, INI = Integrase inhibitors.

Στο σχήμα 8 παρουσιάζεται το γράφημα με τα επίπεδα των αντισωμάτων ανά ασθενή με την πάροδο του χρόνου. Παρατηρούμε ότι μάλλον οι τίτλοι αντισωμάτων των ασθενών που έλαβαν 20mcg εμβολίου είναι γενικά χαμηλότεροι (χρώμα μπλε) αφού συνωστίζονται στο κάτω μέρος του διαγράμματος. Αυτό φαίνεται και από την γραμμή εξομάλυνσης (smoothing) LOWESS που βοηθά να έχουμε μία καθαρότερη εικόνα των δεδομένων μας (σχήμα 9).



Σχήμα 9 Επίπεδα τίτλων Anti-HBs μεταξύ των 2 εμβολίων ανά ασθενή. Επίσης δίνεται η διάμεσος τιμή όπως εκτιμήθηκε με γραμμή εξομάλυνσης LOWESS ανά ομάδα

Το συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης των ασθενών (AntiHBs >10 IU/L) στον 1 μήνα μετά τον εμβολιασμό ήταν συνολικά 72%. Στους ασθενείς που έλαβαν HBVaxPRO (40mcg) το ποσοστό αυτό ήταν 79.3% δηλαδή 50 από τους 63 ανταποκρίθηκαν, έναντι 68.7% (92 από τους 134) που είχε η ομάδα που έλαβε Engerix (20mcg) ($p=0.118$). Από τον αδρό έλεγχο χ^2 δηλαδή διαφαίνεται μία τάση υπέρ δόσης των 40μg αν και η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική, ίσως και λόγω του μικρού αριθμού ατόμων ή λόγω επίδρασης συγχυτικών παραγόντων. Τα αντίστοιχα ποσοστά για τον μήνα 12 ήταν 41/63 (65%) και 71/134 (53%) υπέρ της ομάδας HBVaxPRO και για τον μήνα 24 30/63 (47.6%) και 53/134 (39.6%) αντίστοιχα. Τα ποσοστά ανταπόκρισης ανά μήνα ελέγχου παρουσιάζονται στον πίνακα 3.

Πίνακας 3 Ποσοστά ανταπόκρισης στους μήνες 1, 12 και 24 μετά την ολοκλήρωση του εμβολιασμού ανά ομάδα

Ποσοστά ανταπόκρισης ανά χρονική στιγμή	Ομάδα HBVaxPRO n/N (%)	Ομάδα Engerix n/N (%)	P-value
Μήνας 1 (%)	50/63 (79.3%)	92/134 (68.7%)	0.118
Μήνας 12 (%)	41/63 (65%)	71/134 (53%)	0.110
Μήνας 24 (%)	30/63 (47.6%)	53/134 (39.6%)	0.285

Από τα ποσοστά ανταπόκρισης διαπιστώνουμε επίσης ότι οι ασθενείς που εμβολιάστηκαν με 40μg (Ομάδα HBVaxPRO) είχαν και πιο ανθεκτική ανταπόκριση, καθώς από τους 50 που ανέπτυξαν προστατευτικά αντισώματα στον 1^ο μήνα οι 41 (82%) εξακολουθούσαν να είναι προστατευμένοι στο 1^ο έτος και οι 30 (60%) στο 2^ο έτος μετά το πέρας του εμβολιασμού. Τα αντίστοιχα ποσοστά για την ομάδα των 20μg ήταν 77% (71/92) στο 1^ο έτος και 57.6% (53/92) στη διετία.

Τα αποτελέσματα της μονοπαραγοντικής ανάλυσης λογιστικής παλινδρόμησης παρουσιάζονται στον πίνακα 4 όπου ελέγχθηκε κάθε μεταβλητή ξεχωριστά, με εξαρτημένη μεταβλητή την ανταπόκριση (response, 0 αν AntiHBs<10 IU/l και 1 αν AntiHBs≥ 10IU/l) στον 1^ο μήνα μετά το τέλος του εμβολιασμού.

Μεταβλητή	OR	p-value	Διάστημα εμπιστοσύνης (95% CI)
Εμβόλιο Engerix (20mg) HBVaxPro (40mg)	1 1.75	0.121	0.86 - 3.58
Ηλικία (έτη)	0.966	0.049	0.934 - 0.999
Φύλο Άρρεν Θήλυ	1 2.45	0.252	0.53 - 11.3
Κάπνισμα Ναι Όχι	1 1.2	0.551	0.65 - 2.26
BMI	0.94	0.233	0.84 - 1.04
Ανοσοανεπάρκεια (ναδία CD4<200/ml ή ιστορικό ευκαιριακής λοίμωξης) Ναι Όχι	1 1.02	0.964	0.47 - 2.22
Αντιρετροϊκή Βασισμένη σε PI Βασισμένη σε NNRTI Βασισμένη σε INSTI	1 1.17 0.92	0.679 0.842	0.55 - 2.48 0.42 - 2.02
CD4 (cells/μl)	0.999	0.364	0.998 - 1.000
Ναδία CD4 (cells/μl)	1.000	0.748	0.998 - 1.002
CD4/CD8	0.76	0.525	0.32 - 1.79

Πίνακας 4. Αποτελέσματα μονοπαραγοντικών μοντέλων λογιστικής παλινδρόμησης με έκβαση (outcome) την ανταπόκριση στον 1^ο μήνα μετά το τέλος του εμβολιαστικού σχήματος. OR: OddsRatio

Βλέπουμε ότι το OR για ανταπόκριση στην ομάδα των 40μg σε σχέση με την καθιερωμένη δόση των 20μg είναι 1.75 με επίπεδο σημαντικότητας $p = 0.121$, δηλαδή αντίστοιχο με το αποτέλεσμα του τεστ χ^2 . Η ηλικία παρατηρούμε ότι σχετίζεται με την ανταπόκριση σε

στατιστικά σημαντικό βαθμό ($p= 0.049$). Στη συνέχεια έγινε πολυμεταβλητή ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης ώστε να βρεθεί το διορθωμένο OR. Ελέγχθηκαν όλες οι ανεξάρτητες μεταβλητές με backward forward έλεγχο επιλογής του καταλληλότερου μοντέλου, ξεκινώντας από το κορεσμένο (saturated) μοντέλο.

Από τις ανεξάρτητες μεταβλητές που μελετήθηκαν, πλην της ηλικίας και της ομάδας του εμβολίου, δεν βρέθηκε άλλη στατιστικά σημαντική. Συγκεκριμένα, η ηλικία είναι γνωστός παράγοντας από τη βιβλιογραφία που σχετίζεται με μειωμένη απόκριση στον εμβολιασμό, εύρημα το οποίο επιβεβαιώθηκε και στη μελέτη μας. Τα ναδίρ CD4 -μεταβλητή στην οποία διέφεραν οι δύο ομάδες- ελέγχθηκαν στη λογιστική παλινδρόμηση και δεν βρέθηκε συσχέτιση με την ανταπόκριση στον εμβολιασμό.

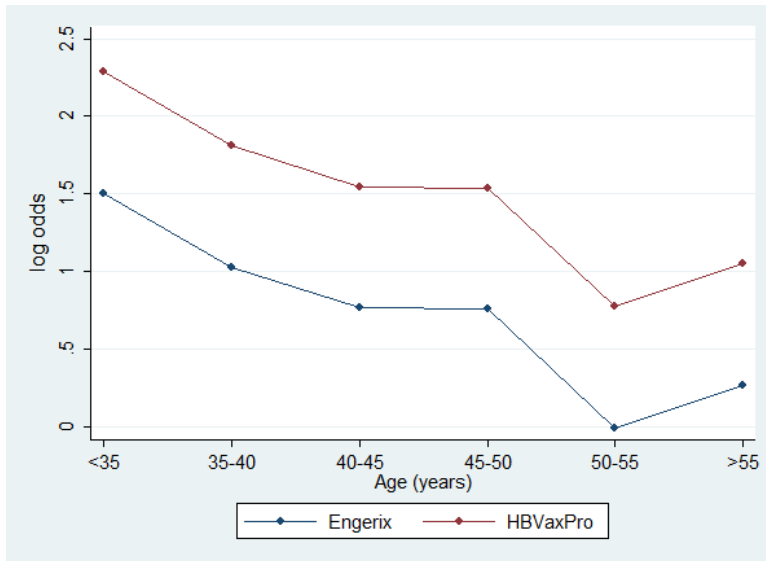
Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της λογιστικής εξάρτησης όπου έχουν συμπεριληφθεί και οι δύο παράγοντες. Το προσαρμοσμένο (adjusted) για την ηλικία OR ανταπόκρισης βρέθηκε ίσο με 2.2 (95% CI: 1.03- 4.6; $p=0.041$) υπέρ της ομάδας HBVaxPRO. Άρα παρατηρούμε ότι η δόση με 40μg εμβολίου σχετίζεται με υπερδιπλάσια odds για προστατευτικά επίπεδα αντισωμάτων έναντι του HBV σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Η διαφορά αυτή είναι στατιστικά σημαντική, υποδεικνύοντας ότι η ηλικία δρούσε ως συγχυτικός παράγοντας. Για την ηλικία, θεωρώντας τη ως γραμμική, βρέθηκε ένα OR= 0.958 ($p=0.016$), υποδεικνύοντας ότι ανά έτος αύξησης της ηλικίας η ανταπόκριση μειώνεται κατά 4.2%.

Μεταβλητές	OR	p-value	95% Διάστημα εμπιστοσύνης (95% CI)
Εμβόλιο Engerix HBVaxPRO	1 2.2	0.041	1.03 - 4.6
Ηλικία	0.958	0.016	0.924 - 0.992

Πίνακας 5. OddsRatio (95%CI) για ανταπόκριση: αποτελέσματα από πολυπαραγοντική λογαριθμική εξάρτηση συμπεριλαμβάνοντας ταυτόχρονα την ομάδα και την ηλικία (στη γραμμική της μορφή). N=197

Ωστόσο κατά την περαιτέρω διερεύνηση παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση της ηλικίας με το είδος του εμβολίου. Αυτό οδήγησε σε περαιτέρω έλεγχο για την συναρτησιακή σχέση της ηλικίας με τα odds ανταπόκρισης. Προκειμένου να ελεγχθεί η μορφή της σχέσης, η ηλικία μετατράπηκε σε κατηγορική με 6 κατηγορίες (<35, 35-40, 40-45, 50-55 και > 55 ετών) και το μοντέλο αυτό συγκρίθηκε ως προς την εφαρμογή του με μοντέλο που η ηλικία ήταν γραμμική.

Στο Σχήμα 10 παρουσιάζονται τα log-odds της ανταπόκρισης ανάλογα με τη ηλικία, έχοντας την ηλικία ως κατηγορική σε 6 ομάδες. Φαίνεται η σχέση να μην είναι γραμμική, με την ανταπόκριση να μειώνεται με την ηλικία έως την ηλικία των 55 ετών, μετά την οποία παρατηρείται αντιστροφή της σχέσης.



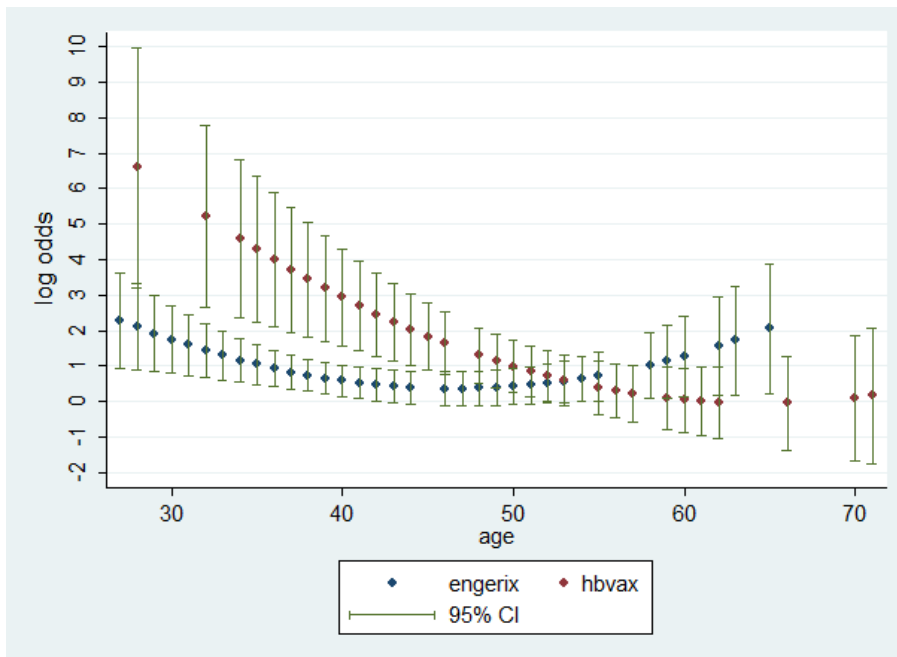
Σχήμα 10 Log Odds με την ηλικία ως κατηγορική μεταβλητή με 6 κατηγορίες

Με βάση την παρατήρηση αυτή διερευνήθηκε η βέλτιστη συνάρτηση της ηλικίας, η οποία βρέθηκε ότι είναι η παραβολοειδής (δηλαδή εισήχθη στο μοντέλο ο γραμμικός όρος της ηλικίας και το τετράγωνό του). Στη συνέχεια διερευνήθηκε αν υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση της ηλικίας με το εμβολιαστικό σχήμα. Το καταλληλότερο μοντέλο με την καλύτερη προσαρμογή στα δεδομένα περιλαμβάνει παραβολοειδή συνάρτηση της ηλικίας και αλληλεπίδραση του γραμμικού όρου της ηλικίας με το εμβολιαστικό σχήμα. Τα log odds και τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης για την ηλικία να παρουσιάζονται στο σχήμα 11. Η μαθηματική μορφή του μοντέλου αυτού με τα αντίστοιχα coefficients είναι η εξής: $\log(\pi/1-\pi) = 11,27 + 9,5 * \text{ομάδα εμβολίου} - 0,47 * \text{ηλικία} - 0,18 * \text{ηλικία} * \text{ομάδα} + 0.005 * \text{ηλικία}^2$. Το μοντέλο αυτό είχε την καλύτερη εφαρμογή με βάση το AIC κριτήριο και την υψηλότερη log likelihood όπως παρουσιάζεται στον πίνακα 6. Το LR test επίσης δείχνει ότι το μοντέλο με την αλληλεπίδραση (C) προσφέρει επιπλέον πληροφορία. Από το σχήμα 11 παρατηρούμε ότι μέχρι

την ηλικία των 50-55 ετών η ομάδα του HBVaxPRO υπερτερεί ενώ ακολούθως, αυξανόμενης της ηλικίας η διαφορά στις δύο ομάδες δεν είναι στατιστικά σημαντική. Αυτό συμβαδίζει με τη βιβλιογραφικές αναφορές όπου η ηλικία είναι γνωστός παράγοντας μειωμένης ανταπόκρισης στην ανοσοποίηση και στο πλαίσιο της εν λόγω μελέτης δείχνει ότι μάλλον ο πληθυσμός που ανταποκρίνεται καλύτερα στο εμβολιαστικό σχήμα με 40μg είναι οι νεώτεροι σε ηλικία ασθενείς.

Μοντέλο	Log Likelihood	N	AIC	BIC
A (εμβόλιο, ηλικία)	-112.4629	197	230.9258	240.7754
B (εμβόλιο, ηλικία και ηλικία ²)	-111.9914	197	231.9827	245.1155
C (εμβόλιο, ηλικία, αλληλεπίδραση αυτών και ηλικία ²)	-106.7667	197	223.5334	239.9495
LR test μεταξύ A και C	LR $\chi^2 = 11.39$ A nested in C DF=2 P = 0.0034			

Πίνακας 6
Κριτήρια
επιλογής
καταλληλ
ότερου
μοντέλου



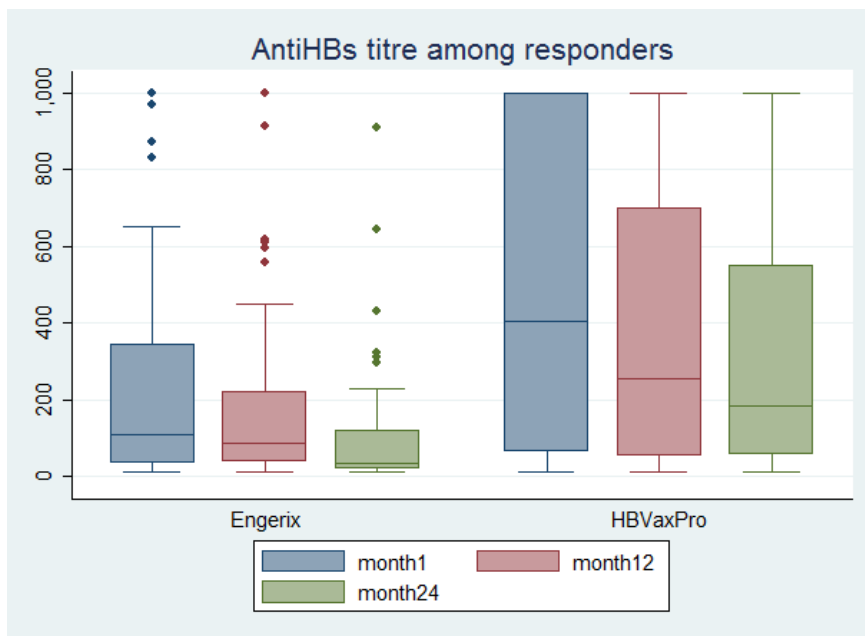
Σχήμα 11 Log Odds για ανταπόκριση ανά ηλικία μεταξύ των 2 ομάδων (μοντέλο με αλληλεπίδραση ηλικίας-εμβολίου και τετράγωνο ηλικίας)

Με βάση αυτή την παρατήρηση προχωρήσαμε σε μία ανάλυση της υποομάδας των νεαρότερων σε ηλικία ασθενών (<55 ετών) με δείγμα N=171 (50 στην ομάδα των 40μg και 121 στην ομάδα των 20μg). Η ανάλυση αυτή έδειξε ένα OR=3.6 για ανάπτυξη προστατευτικών αντισωμάτων υπέρ της δόσης των 40μg του εμβολίου σε στατιστικά πολύ σημαντικό βαθμό, διορθωμένο για την ηλικία. Αναλυτικά τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 7. Στους νέους ασθενείς φαίνεται ότι δόση με 40μg είναι πιο αποτελεσματική αφού τα odds για ανταπόκριση είναι περίπου 3,5 φορές μεγαλύτερα συγκριτικά με τη δόση των 20μg.

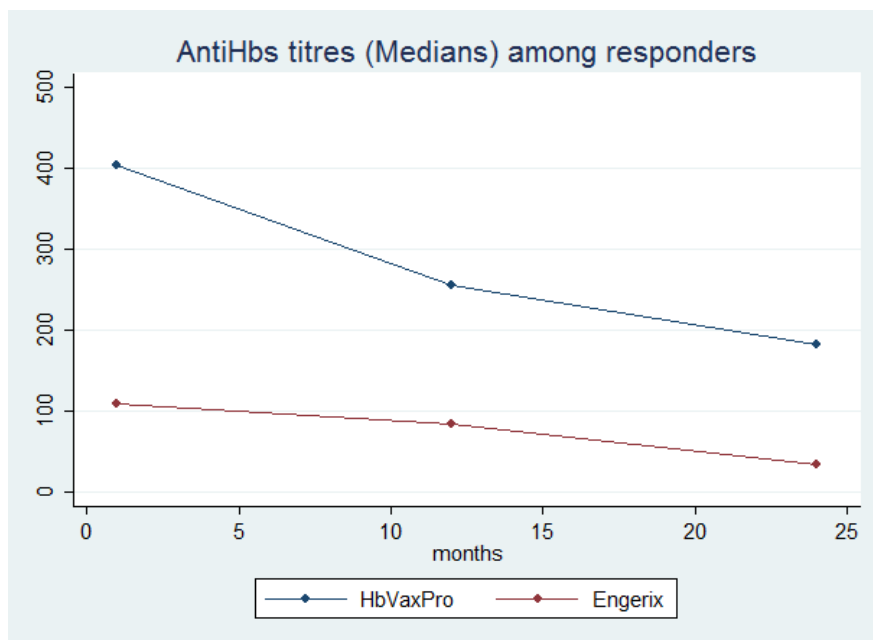
Μεταβλητές	OR	p-value	95% Διάστημα εμπιστοσύνης (95% CI)
Εμβόλιο			
Engerix	1		
HBVaxPRO	3.6	0.006	1.45 - 8.99
Ηλικία	0.931	0.009	0.883 - 0.982

Πίνακας 7. OR (95% CI) ανταπόκρισης από πολυπαραγοντική λογιστική παλινδρόμηση στην υποομάδα ατόμων ηλικίας <55 ετών. N=171

Για τους ασθενείς που είχαν ανταπόκριση (δηλαδή response=1), τα επίπεδα των τίτλων αντισωμάτων anti-HBS, ανάλογα με την ομάδα παρατίθενται στο παρακάτω θηκόγραμμα (σχήμα 12). Βλέπουμε υψηλή μεταβλητότητα και μεγάλο εύρος διακύμανσης ειδικά στην ομάδα του HBVaxPRO. Στην 1^η ομάδα (Engerix) οι τιμές κυμαίνονται από 10-1000 (IQR= 34-345) και αντίστοιχα στην 2^η (HBVaxPRO) 12-1000 (IQR= 65-1000) όπου φαίνεται και η πολύ μεγάλη μεταβλητότητα στην ομάδα HBVaxPRO. Αντίστοιχα από το γράφημα με τις διαμέσες τιμές φαίνεται ότι η ομάδα που έλαβε 40μg είχε κατά μέσο όρο υψηλότερο τίτλο αντισωμάτων (Σχήμα 13).

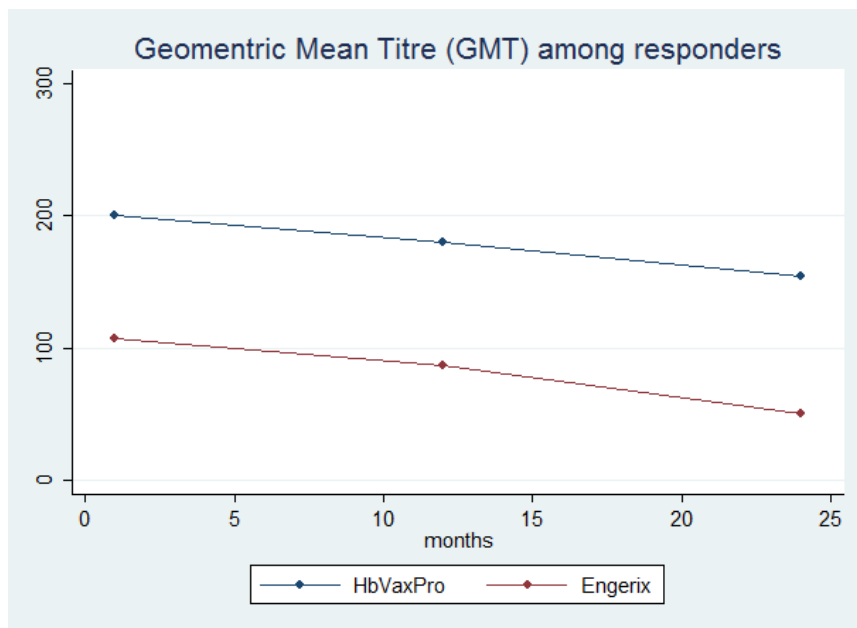


Σχήμα 92 Θηκόγραμμα (Boxplot) με τίτλους αντισωμάτων ανάλογα με την ομάδα



Σχήμα 103 Διάμεσες τιμές αντισωμάτων ανάλογα με την ομάδα

Η ομάδα που έλαβε 40μg είχε κατά μέσο όρο υψηλότερους τίτλους αντισωμάτων σε όλες τις χρονικές περιόδους (δηλαδή στα χρονικά διαστήματα που έγιναν οι μετρήσεις 1, 12 και 24 μήνες) σε στατιστικά πολύ σημαντικό βαθμό. Για τη συγκεκριμένη σύγκριση χρησιμοποιήθηκαν οι γεωμετρικές μέσες τιμές (GMT) μετά το λογαριθμικό μετασχηματισμό των αντισωμάτων (Σχήμα 14).



Σχήμα 114 Γεωμετρική μέση τιμή (GMT) των ασθενών που είχαν ανταπόκριση ανάλογα με την ομάδα

Η σύγκριση των GMT έγινε με απαραμετρικό Wilcoxon test και δείχνει στατιστικά σημαντική διαφορά των τίτλων anti-Hbs σε όλες τις χρονικές στιγμές μεταξύ των 2 δόσεων εμβολίων. Στον πίνακα 8 φαίνονται τα αποτελέσματα με τις γεωμετρικές μέσες τιμές των τίτλων αντισωμάτων.

Γεωμετρικές μέσες τιμές (GMT)	Ομάδα HBVaxPRO	Ομάδα Engerix	p value
GMT Μήνας 1 (95% CI)	200 (125 - 318)	107 (80 - 142)	p = 0.0086
GMT Μήνας 12 (95%CI)	180 (114 - 285)	87 (66 - 115)	p = 0.0077
GMT Μήνας 24 (95%CI)	154 (91 - 261)	51 (37 - 71)	p = 0.0008

Πίνακας 8. Γεωμετρικές μέσες τιμές (GMT) ανά χρονική στιγμή και ομάδα

2.3 Συζήτηση

Ο εμβολιασμός έναντι του HBV στον HIV μολυσμένο πληθυσμό είναι σημαντική παράμετρος στην γενικότερη προσέγγιση και ιατρική περίθαλψη αυτών των ασθενών καθώς οι κοινοί τρόποι μετάδοσης των δύο ιών έχουν ως αποτέλεσμα την υψηλότερη επίπτωση του HBV, υψηλότερο κίνδυνο χρονιότητας και επακολούθως κίρρωσης και ΗΚΚ. Έτσι είναι σαφές ότι στην εποχή της υψηλής δραστηριότητας αντιρετροϊκής θεραπείας, που το προσδόκιμο επιβίωσης έχει φτάσει σχεδόν αυτό του γενικού πληθυσμού, η πρόληψη για την ηπατίτιδα Β είναι ζωτικής σημασίας. Ωστόσο, όπως προαναφέραμε, η ανταπόκριση των ασθενών αυτών στο καθιερωμένο εμβολιαστικό σχήμα με 20μg σε τρεις δόσεις ποικίλει και δεν υπάρχουν σαφείς παγκόσμιες οδηγίες. Ωστόσο η BIHVA (British HIV Association) συστήνει πλέον επισήμως από το 2013 την διπλάσια δόση (40μg) σε όλους τους HIV οροθετικούς. Πολλά εμβολιαστικά σχήματα έχουν μελετηθεί στην προσπάθεια για το βέλτιστο αποτέλεσμα.

Στην παρούσα μελέτη βρήκαμε ότι ο εμβολιασμός με 3 δόσεις των 40μg είχε υψηλότερα ποσοστά ανταπόκρισης σε σχέση με το κλασικό σχήμα των 20μg. Το ποσοστό ανταπόκρισης στην ομάδα των 40μg ήταν 79.3%. Από τη βιβλιογραφία σε 5 μελέτες που έχει εκτιμηθεί το ποσοστό ανταπόκρισης του ίδιου σχήματος (3 δόσεις των 40μg) τα ποσοστά που βρέθηκαν ήταν από 46.9% (Fonseca et al. 2005) έως 83% (Potsch et al. 2012). Αναλυτικά στον πίνακα (8) φαίνονται τα ποσοστά ανταπόκρισης και το είδος μελέτης. Από αυτές 3 ήταν τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές (RTC) (Cornejo-Juárez et al. 2006; das Graças Sasaki et al. 2003; Fonseca et al. 2005) και μία από αυτές σύγκρινε (Fonseca et al. 2005) 3 δόσεις των 40μg με 3 δόσεις των 20μg, όπως η παρούσα μελέτη. Τα αποτελέσματά της ήταν 47% έναντι 34% υπέρ της διπλής δόσης ($p = 0.07$), όμως στο υποσύνολο των ασθενών με $CD4\ Tcell > 350\ cells/mm^3$ τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 64.3% έναντι 39.3% με τη διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική ($p = 0.008$). Επίσης το (διορθωμένο για τις μεταβλητές: $CD4$, ιικό φορτίο και ετεροφιλόφυλοι/ΑΣΑ) OR ανταπόκρισης της μελέτης αυτής ήταν 2.16 (95% CI: 1.12–4.13) υπέρ της διπλής δόσης, αποτέλεσμα σχεδόν ίδιο με αυτό της παρούσας μελέτης (2.2 με 95% CI: 1.03- 4.6).

Όνομα ερευνητή/έτος	Σχεδιασμός μελέτης	Εμβολιαστικό σχήμα	Ποσοστά ανταπόκρισης	Κύρια ευρήματα
Sasaki et al. 2003	RTC	(a) 40 μg στους 0,1,6 μήνες (b) 40 μg στους 0,1,6 μήνες με 20 μg GM-CSF στην πρώτη επίσκεψη	(a) 60.0% (24/40) (b) 72.5% (29/40)	Στις 210 μέρες μετά τον εμβολιασμό δεν βρέθηκε διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες (p = 0.23)
Fonseca et al. 2005	RTC	(a) 20 μg στους 0,1,6 μήνες (b) 40 μg στους 0,1,6 μήνες	Overall: 40.6% (78/192) (a) 34.0% (32/94) (b) 46.9% (46/98)	Θετική συσχέτιση με την ανταπόκριση για την ομάδα που έλαβε 40μg βρέθηκε στους ασθενείς με CD4 ≥ 350 cells/mm ³
Cornejo-Juárez et al. 2006	RTC	(a) 10 μg στους 0,1,6 μήνες (b) 40 μg στους 0,1,6 μήνες	(a) 61.5% (24/39) (b) 60.0% (29/40)	Θετική συσχέτιση με την ανταπόκριση βρέθηκε για τις γυναίκες και υψηλότερα CD4
(Veiga et al. 2006)	Prospective observational	40 μg στους 0,1,6 μήνες	63.8% (30/47)	Θετική συσχέτιση με την ανταπόκριση βρέθηκε για υψηλότερα CD4 και χαμηλότερα επίπεδα HIV RNA
Potsch et al. 2012	Retrospective	40 μg στους 0,1,2,6 μήνες	Μετά την 3 ^η δόση: 83.4% (136/163) Μετά την 4 ^η δόση: 90.8% (148/163)	Θετική συσχέτιση με ανταπόκριση βρέθηκε για υψηλότερα CD4, μη ανιχνεύσιμο HIV-1 ιικό φορτίο μετά τις 4 δόσεις. Οι ασθενείς με μη ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο είχαν σχεδόν 3 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν anti-HBs πάνω από 100 mIU/mL σε σχέση με αυτούς που είχαν ανιχνεύσιμο φορτίο.

Πίνακας 9. Μελέτες στις οποίες εκτιμήθηκε το ποσοστό ανταπόκρισης μετά από εμβολιασμό με 40μg σε 3 δόσεις (0, 1, 6 μήνες). RTC: Randomized Clinical Trials (Τυχασιοποιημένες κλινικές δοκιμές)

Μία μετα-ανάλυση που δημοσιεύτηκε το 2013 (Ni et al. 2013) και συνέκρινε το κλασικό σχήμα με την υψηλότερη δόση, έδειξε ένα συνολικό OR 1.82 (95% CI: 1.35–2.47) υπέρ του σχήματος με 40μg. Η μετα-ανάλυση αυτή συμπεριέλαβε τις μελέτες (Cornejo-Juárez et al. 2006; Fonseca et al. 2005; Launay et al. 2011) που υπάρχουν στον πίνακα (8) καθώς και την μελέτη (Pseudos Jr et al. 2010) που έγινε σε ασθενείς που είχαν αποτύχει σε προηγούμενο εμβολιασμό, την μελέτη (Flynn et al. 2011) που έγινε σε νέους <25 ετών ασθενείς και τη μελέτη (Launay et al. 2011) που είχε 4 δόσεις. Μάλιστα πρόσφατα η δευτερογενής ανάλυση της τελευταίας μελέτης (Launay et al. 2016) έδειξε ότι οι 4 δόσεις των 40μg υπερτερούν σε στατιστικά πολύ σημαντικό βαθμό του κλασικού σχήματος αφού 42 μήνες μετά το 71% είχε προστατευτικά επίπεδα anti-HBs έναντι του 41% που είχε η ομάδα με το καθιερωμένο εμβολιαστικό σχήμα ($p < 0.001$).

Στη μελέτη μας βρέθηκε ότι οι ασθενείς της ομάδα των 40μg είχαν επίσης πιο ανθεκτική ανταπόκριση με υψηλότερους τίτλους αντισωμάτων σε όλες τις χρονικές στιγμές. Ένα έτος μετά τον εμβολιασμό 82% των αρχικά ανταποκριθέντων στην ομάδα των 40μg είχε ακόμα οροπροστατευτικά αντισώματα, ενώ 2 έτη μετά τον εμβολιασμό το 60% (30 από τους 50 αρχικά ανταποκριθέντες) των ασθενών που είχαν αρχικά ανταπόκριση είχε ακόμα προστατευτικά επίπεδα αντισωμάτων. Τα αντίστοιχα ποσοστά από μία συστηματική ανασκόπηση (Kernéis et al. 2014) ήταν 71% στον πρώτο χρόνο και 33–61% μετά από 2 έτη.

Από τους γνωστούς παράγοντες που φαίνεται να σχετίζονται με την ανταπόκριση στον εμβολιασμό, όπως CD4, CD4/CD8, φύλο, BMI, κάπνισμα (Fuster et al. 2016; Yao & Moorman 2013), δεν βρέθηκε κανένας στη μελέτη μας να έχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την ανταπόκριση πλην της ηλικίας. Μάλιστα οι νεότεροι ασθενείς (<55 ετών) είχαν καλύτερη ανταπόκριση ενώ οι μεγαλύτεροι σε ηλικία φαίνεται να μην είχαν όφελος από το εμβολιαστικό σχήμα με τη διπλή δόση. Παρόμοια ευρήματα για την ηλικία είχε και η μελέτη Herrero-Fernández et al. (2018) όπου οι ασθενείς ηλικίας <50 έτη που έλαβαν MVC-cART (antiretroviral treatment containing maraviroc) είχαν καλύτερη ανταπόκριση στον εμβολιασμό σε στατιστικά σημαντικό βαθμό.

Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμπεραίνουμε ότι ο εμβολιασμός με 3 δόσεις των 40mcg φαίνεται να σχετίζεται με καλύτερα ποσοστά ανταπόκρισης και υψηλότερους τίτλους AntiHBs σε σχέση με το κλασικό σχήμα των 20mcg σε ασθενείς με καλή ανοσολογική κατάσταση. Η βιβλιογραφία δείχνει ότι ένα σχήμα με 4 δόσεις των 40mcg ίσως να βελτιώνει κι άλλο τα ποσοστά ανταπόκρισης, ωστόσο λόγω της ιδιαιτερότητας αυτού του πληθυσμού (χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών, πορνεία κλπ), παρατηρείται συχνά κακή συμμόρφωση των ασθενών στις οδηγίες με αποτέλεσμα να μην ολοκληρώνεται σωστά ο εμβολιασμός (Van Herck et al. 2007; de Vries-Sluijs et al. 2011; Tedaldi et al. 2004; Bailey et al. 2008). Σε μελέτη (Bailey et al. 2008) όπου αναλύθηκαν αναδρομικά φάκελοι 1601 ασθενών, από τους 717 που ήταν επιλέξιμοι για εμβολιασμό, οι 503 έλαβαν τουλάχιστον 1 δόση και μόνο οι 356 (49.7%) ολοκλήρωσαν και τις 3 δόσεις, ενώ άλλη μελέτη (Tedaldi et al. 2004) έδειξε ότι μόνο 198 (32.4%) από 612 ασθενείς έλαβαν τουλάχιστον μία δόση εμβολίου για ηπατίτιδα Β. Με βάση αυτά τα δεδομένα το σχήμα με 4 δόσεις ίσως να είναι πολύ δύσκολο να εφαρμοστεί αναλογιζόμενοι τη συμμόρφωση των ασθενών. Καταλήγοντας, το εμβολιαστικό σχήμα με 40mcg σε 3 δόσεις, σε HIV οροθετικούς με καλή ανοσολογική κατάσταση, ενδεχομένως να αποτελεί καλύτερη εναλλακτική επιλογή για τον επιτυχή εμβολιασμό τους έναντι του ιού της ηπατίτιδας Β.

Περιορισμοί της μελέτης είναι η έλλειψη τυχαιοποίησης που πιθανώς εισάγει σφάλμα επιλογής (selection bias) και εκεί οφείλονται κάποιες διαφορές στα βασικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων. Ωστόσο, διορθώσαμε για τις μεταβλητές αυτές που παρέμειναν σημαντικές στο τελικό μοντέλο (όπως για την ηλικία). Επίσης, ένας άλλος περιορισμός αποτελεί το γεγονός ότι δεν πρόκειται για πολυκεντρική μελέτη αφού έλαβε χώρα σε ένα μόνο νοσοκομειακό ίδρυμα. Το ζήτημα του βέλτιστου εμβολιασμού στον πληθυσμό αυτό παραμένει θολό παρόλο που έχουν γίνει μελέτες οι οποίες συνήθως δείχνουν όφελος υπέρ της υψηλής δόσης. Μία μεγάλη πολυκεντρική τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή με 3 ή περισσότερες ομάδες (20mcg 0,1,6/ 40mcg 0,1,6/ 40mcg 0,1,2,6) ίσως να έδινε μία σαφέστερη κατεύθυνση για την κατάρτιση παγκόσμιων κατευθυντήριων οδηγιών.

Περίληψη

Εισαγωγή: Λόγω του κοινού τρόπου μετάδοσης που μοιράζονται οι ιοί HIV και HBV (επαφή με μολυσμένο αίμα, σεξουαλική επαφή, κάθετη μετάδοση κατά τον τοκετό) η συλλοίμωση και με τους 2 ιούς είναι συχνή, καθιστώντας τις σχετιζόμενες με το ήπαρ νόσους (κυρίως ηπατοκυτταρικό καρκίνο και χρόνια ηπατίτιδα), σημαντική αιτία θνησιμότητας και νοσηρότητας στον πληθυσμό αυτό. Στην εποχή της υψηλής δραστηριότητας αντιρετροϊκής αγωγής (highly active antiretroviral therapy - HAART) ο εμβολιασμός των HIV οροθετικών ασθενών έναντι του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV) είναι επιβεβλημένος και συστήνεται σε όλους τους ασθενείς που δεν έχουν εκτεθεί ήδη στον HBV. Ωστόσο, έχει βρεθεί ότι το καθιερωμένο εμβολιαστικό σχήμα που εφαρμόζεται στον υγιή πληθυσμό δεν έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα στους HIV οροθετικούς ασθενείς. Διάφορες μελέτες που έχουν γίνει προτείνουν διαφορετικά σχήματα εμβολιασμού (υψηλότερη δοσολογία, περισσότερες δόσεις, άλλη οδό χορήγησης) με σκοπό την επίτευξη ικανοποιητικότερης ανοσοποίησης έναντι του HBV στον πληθυσμό αυτό.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αξιολόγηση εμβολιαστικού σχήματος έναντι του HBV, με διπλάσια δόση (40mcg) σε σχέση με το κλασικό σχήμα (20mcg), σε δείγμα HIV-οροθετικών ασθενών υπό θεραπεία και με μη ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο.

Μέθοδοι:

Πρόκειται για προοπτική μελέτη που διεξήχθη στο Νοσοκομείο «Ανδρέας Συγγρός» την περίοδο 2012 έως 2016. Κριτήρια εισαγωγής ήταν συλλοίμωση HBV/HIV, υπό επιτυχή (μη-ανιχνεύσιμο ιικό φορτίο) αντιρετροϊκή θεραπεία υψηλής δραστηριότητας (HAART). Εμβολιάστηκαν συνολικά 197 ασθενείς εκ των οποίων 134 έλαβαν το κλασικό σχήμα, δηλαδή 20mcg (Engerix®) σε 3 δόσεις (στους μήνες 0, 1 και 6), και 63 έλαβαν διπλή δόση, δηλαδή 40mcg (HBVaxPRO®), στα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα. Τα αντισώματα AntiHBs μετρήθηκαν στον 1 μήνα, στο 1 έτος και στα 2 έτη μετά το τέλος του εμβολιασμού. Η ανταπόκριση στον εμβολιασμό ορίστηκε ως η ανάπτυξη τίτλων αντισωμάτων ≥ 10 mIU/mL. Τα επίπεδα των αντισωμάτων μετασηματίστηκαν λογαριθμικά και συγκρίθηκαν οι γεωμετρικές μέσες τιμές με Wilcoxon rank-sum test μεταξύ των δύο ομάδων εμβολίου. Λογιστική παλινδρόμηση

διενεργήθηκε για διερεύνηση των παραγόντων που σχετίζονται με την ανάπτυξη ανοσολογικής ανταπόκρισης, όπου διαπιστώθηκε μη γραμμική σχέση της ηλικίας με την ανταπόκριση καθώς και αλληλεπίδραση ανάμεσα στην ηλικία και την ομάδα εμβολίου. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το λογισμικό STATA version 11.

Αποτελέσματα

Το συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης τον πρώτο μήνα μετά το τέλος του εμβολιαστικού σχήματος ήταν 72%. Στην ομάδα του HBVaxPro το ποσοστό αυτό ήταν 79.4% (50/63), ενώ στην ομάδα του Engerix το ποσοστό ήταν 68.7% (92/134), με $p=0.118$. Στο 1 έτος τα ποσοστά αυτά ήταν 65.1% (41/63) για την ομάδα HBVaxPro και 53% (71/134) στην ομάδα Engerix ($p = 0.110$) και στη διετία 47.6% (30/63) και 39.6% (53/134) αντίστοιχα ($p = 0.285$). Οι τίτλοι αντισωμάτων εκφρασμένοι ως γεωμετρικές μέσες τιμές (GMT) ήταν κατά μέσο όρο υψηλότεροι στην ομάδα της διπλής δόσης σε στατιστικά σημαντικό βαθμό σε όλες τις χρονικές στιγμές που μετρήθηκαν. Το διορθωμένο για την ηλικία odds ratio για ανοσολογική ανταπόκριση ήταν 2.2 (95% CI: 1.03- 4.6; $p=0.041$) υπέρ της διπλής δόσης. Από τους παράγοντες που διερευνήθηκαν η ηλικία ήταν η μόνη μεταβλητή που βρέθηκε να σχετίζεται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με την ανταπόκριση (OR= 0.958 ανά έτος, $p=0.016$). Ωστόσο διαπιστώθηκε μη γραμμική σχέση της ανταπόκρισης με την ηλικία καθώς και αλληλεπίδραση ανάμεσα στην ηλικία και την ομάδα εμβολίου που έδειξε ότι το όφελος υπέρ της διπλής δόσης μειώνεται αυξανόμενης της ηλικίας μέχρι τα 55 έτη, ενώ για μεγαλύτερες ηλικίες δεν διαπιστώνεται διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων. Η ανάλυση που έγινε στην υποομάδα των ασθενών ηλικίας <55 ετών έδειξε ένα OR για ανταπόκριση 3.6 (95% CI: 1.45-9; $p=0.006$) υπέρ της διπλής δόσης εμβολίου.

Συμπεράσματα: Τα ευρήματα της μελέτης δείχνουν ότι ο εμβολιασμός με 3 δόσεις των 40mcg φαίνεται να σχετίζεται με καλύτερα ποσοστά ανταπόκρισης και υψηλότερους τίτλους AntiHBs σε σχέση με το κλασικό σχήμα των 20mcg σε 3 δόσεις. Το συγκεκριμένο εμβολιαστικό σχήμα, στους HIV οροθετικούς ασθενείς με καλή ανοσολογική κατάσταση, ενδεχομένως να αποτελεί καλύτερη εναλλακτική επιλογή για τον επιτυχή εμβολιασμό τους έναντι του ιού της ηπατίτιδας B.

Background: Given the shared risk factors for transmission, co-infection of hepatitis B virus (HBV) with human immunodeficiency virus (HIV) is quite common, making liver-related diseases (mainly hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis) important causes of morbidity and mortality in this group of patients. In the era of the highly active antiretroviral therapy (HAART) immunization against HBV is highly recommended for all HIV-infected individuals without evidence of prior HBV infection or immunity. However, the classical schedule used in the general population has been shown to be insufficient in people living with HIV and several studies have been carried out, evaluating the immune response on alternative vaccination regimens and schedules.

Aims: Evaluation of a double dose (40mg) vaccination schedule against HBV in HIV positive patients who are under successful antiretroviral treatment with undetectable viral load.

Methods: Data were drawn from a cohort study of HIV-infected individuals followed in the “Andras Sygros” hospital during 2012 to 2016. Inclusion criteria were: HIV-HCV coinfection and successful (undetectable viral load) highly active antiretroviral therapy (HAART). In total, 197 patients were vaccinated, 134 of them with the standard regimen (Engerix 20mcg on months 0, 1, 6) and 63 with a double dose (HBVaxPro 40mcg on months 0, 1, 6). Anti-HBs antibody titer were measured at 1, 12 and 24 months. Immune response was defined as anti-HBs levels ≥ 10 mIU/mL. Anti-HBs levels were log transformed for geometric mean titer (GMT) and compared between the two vaccination groups by Wilcoxon rank-sum tests. To investigate factors that could potentially affect immune response we applied multiple logistic regression. Non linear effects of age on immune response as well interactions between age and vaccine group were also investigated. All statistical analyses were conducted using STATA software version 11.

Results: The overall vaccine response at first month was 72% being 79.4% in the HBVaxPro group and 68.7% in the Engerix group ($p=0.118$). At 1 and 2 years after vaccination the corresponding percentages were 65.1% vs 53% ($p = 0.110$) and 47.6% vs 39.6% ($p = 0.285$). Anti-

HBs levels were on average higher among responders receiving the double vaccine dose compared to those receiving the standard dose in all investigated time points. The adjusted for age OR of immune response was 2.2 (95% CI: 1.03- 4.6; p=0.041) in favor of double dose vaccination. Among all tested covariables (age, CD4 count, nadir CD4/history of opportunistic infection, CD4/CD8 ratio, base of HAART, BMI, smoking status, sex), age was the only one found to significantly correlate with immune response (OR= 0.958 per year, p=0.016). Further analysis revealed that the association of the odds of immune response with age was not linear and, in addition, a significant interaction between age and vaccine groups was found. The superiority of double dose vaccination compared to the standard dose decreased with age for up to 55 years, although the difference remained statistically significant up to this age, but there were no significant differences after the age of 55 years. A subgroup analysis including only patients younger than 55 years old (N=171) showed an overall OR of immune response when comparing double dose with standard dose of vaccination equal to 3.6 (95% CI: 1.45-9; p=0.006).

Conclusion:

A vaccination schedule with three doses of 40mcg HBVaxPRO seems to achieve better response rates and higher titer levels compared to classical one of 20mg among a population of HIV infected patients with undetectable HIV viral load. This regimen may be a favored alternate for the effective immunization of these patients.

Βιβλιογραφία

- Arankalle, V. et al., 2011. An outbreak of hepatitis B with high mortality in India: association with precore, basal core promoter mutants and improperly sterilized syringes. *Journal of viral hepatitis*, 18(4).
- Arts, E.J. & Hazuda, D.J., 2012. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(4), p.a007161.
- Autran, B. et al., 1997. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science*, 277(5322), pp.112–116.
- Bailey, C.L., Smith, V. & Sands, M., 2008. Hepatitis B vaccine: a seven-year study of adherence to the immunization guidelines and efficacy in HIV-1-positive adults. *International Journal of Infectious Diseases*, 12(6), pp.e77–e83.
- Bruguera, M. et al., 1992. Impaired response to recombinant hepatitis B vaccine in HIV-infected persons. *Journal of clinical gastroenterology*, 14(1), pp.27–30.
- Chaiklang, K. et al., 2013. Comparison of immunogenicity and safety of four doses and four double doses vs. standard doses of hepatitis B vaccination in HIV-infected adults: a randomized, controlled trial. *PLoS One*, 8(11), p.e80409.
- Chen, C.-F. et al., 2011. Changes in serum levels of HBV DNA and alanine aminotransferase determine risk for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 141(4), pp.1240–8, 1248.e1–2.
- Chen, C.-J. et al., 2006. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA*, 295(1), pp.65–73.
- Cheruvu, S., Marks, K. & Talal, A.H., 2007. Understanding the pathogenesis and management of hepatitis B/HIV and hepatitis B/hepatitis C virus coinfection. *Clinics in liver disease*, 11(4), pp.917–43, ix–x.
- Collier, A.C. et al., 1996. Treatment of human immunodeficiency virus infection with saquinavir, zidovudine, and zalcitabine. *New England Journal of Medicine*, 334(16), pp.1011–1018.
- Cornejo-Juárez, P. et al., 2006. Randomized controlled trial of Hepatitis B virus vaccine in HIV-1-infected patients comparing two different doses. *AIDS research and therapy*, 3(1), p.9.
- D'Aquila, R.T. et al., 1996. Nevirapine, zidovudine, and didanosine compared with zidovudine and didanosine in patients with HIV-1 infection. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. National Institute of Allergy and Infectious Diseases AIDS Clinical Trials Group Protocol 241 Investigators. *Annals of internal medicine*, 124(12), pp.1019–1030.

- Dimitrakopoulos, A. et al., 2000. The prevalence of hepatitis B and C in HIV-positive Greek patients: relationship to survival of deceased AIDS patients. *The Journal of infection*, 40(2), pp.127–31.
- Duberg, A.-S. et al., 2008. Cause of death in individuals with chronic HBV and/or HCV infection, a nationwide community-based register study. *Journal of viral hepatitis*, 15(7), pp.538–50.
- El-Serag, H.B. & Kanwal, F., 2014. Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma in the United States: Where Are We? Where Do We Go? *Hepatology*.
- Elefsiniotis, I.S. et al., 2005. Serological profile of HBV infection and liver histopathology among injecting drug users with chronic HCV infection in Greece. *European journal of internal medicine*, 16(7), pp.496–500.
- Fanales-Belasio, E. et al., 2010. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Annali dell'Istituto superiore di sanita*, 46(1), pp.5–14.
- Fattovich, G., Bortolotti, F. & Donato, F., 2008. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *Journal of hepatology*, 48(2), pp.335–52.
- Filippini, P. et al., 2007. Virological and clinical aspects of HBV-HCV coinfection in HIV positive patients. *Journal of medical virology*, 79(11), pp.1679–85.
- Fisman, D.N., Agrawal, D. & Leder, K., 2002. The effect of age on immunologic response to recombinant hepatitis B vaccine: a meta-analysis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 35(11), pp.1368–75.
- Flynn, P.M. et al., 2011. Hepatitis B vaccination in HIV-infected youth: a randomized trial of three regimens. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*, 56(4), p.325.
- Fonseca, M.O. et al., 2005. Randomized trial of recombinant hepatitis B vaccine in HIV-infected adult patients comparing a standard dose to a double dose. *Vaccine*, 23(22), pp.2902–2908.
- Fuster, F. et al., 2016. CD4/CD8 ratio as a predictor of the response to HBV vaccination in HIV-positive patients: A prospective cohort study. *Vaccine*, 34(16), pp.1889–1895.
- Gao, F. et al., 1999. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature*, 397(6718), p.436.
- Geretti, A.M. et al., 2016. British HIV Association Guidelines on the Use of Vaccines in HIV-Positive Adults 2015. *HIV medicine*, 17(S3).
- Godkin, A., Davenport, M. & Hill, A.V.S., 2005. Molecular analysis of HLA class II associations with hepatitis B virus clearance and vaccine nonresponsiveness. *Hepatology*

- (*Baltimore, Md.*), 41(6), pp.1383–90.
- Das Graças Sasaki, M., Foccacia, R. & de Messias-Reason, I.J., 2003. Efficacy of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) as a vaccine adjuvant for hepatitis B virus in patients with HIV infection. *Vaccine*, 21(31), pp.4545–4549.
- Van Herck, K., Leuridan, E. & Van Damme, P., 2007. Schedules for hepatitis B vaccination of risk groups: balancing immunogenicity and compliance. *Sexually transmitted infections*, 83(6), pp.426–432.
- Herrero-Fernández, I. et al., 2018. Association between a Suppressive Combined Antiretroviral Therapy Containing Maraviroc and the Hepatitis B Virus Vaccine Response. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(1), pp.e02050–17.
- Hosmer Jr, D.W., Lemeshow, S. & Sturdivant, R.X., 2013. *Applied logistic regression*, John Wiley & Sons.
- Iloeje, U.H. et al., 2006. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology*, 130(3), pp.678–686.
- Jacques, P. et al., 2002. The immunogenicity and reactogenicity profile of a candidate hepatitis B vaccine in an adult vaccine non-responder population. *Vaccine*, 20(31-32), pp.3644–9.
- Kao, J.-H. & Chen, D.-S., 2002. Global control of hepatitis B virus infection. *The Lancet infectious diseases*, 2(7), pp.395–403.
- keelpno.gr, 2017. HIV λοίμωξη: νεότερα επιδημιολογικά δεδομένα, Οκτώβριος 2017. Available at: keelpno.gr.
- Kellerman, S.E. et al., 2003. Prevalence of chronic hepatitis B and incidence of acute hepatitis B infection in human immunodeficiency virus-infected subjects. *The Journal of infectious diseases*, 188(4), pp.571–577.
- Kernéis, S. et al., 2014. Long-term immune responses to vaccination in HIV-infected patients: a systematic review and meta-analysis. *Clinical infectious diseases*, 58(8), pp.1130–1139.
- Kim, M.-J. et al., 2003. Revaccination of healthy nonresponders with hepatitis B vaccine and prediction of seroprotection response. *Vaccine*, 21(11-12), pp.1174–9.
- Klein, S.L., 2012. Sex influences immune responses to viruses, and efficacy of prophylaxis and treatments for viral diseases. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 34(12), pp.1050–9.
- Kleinbaum, D. & Klein, M., 2010. *Statistics for Biology and Health. Logistics regresion. A Self-Learning Text.* 3-rd ed.

- Komanduri, K.V. et al., 1998. Restoration of cytomegalovirus-specific CD4+ T-lymphocyte responses after ganciclovir and highly active antiretroviral therapy in individuals infected with HIV-1. *Nature medicine*, 4(8), pp.953–956.
- Koopman, G. et al., 1999. The relative resistance of HIV type 1-infected chimpanzees to AIDS correlates with the maintenance of follicular architecture and the absence of infiltration by CD8+ cytotoxic T lymphocytes. *AIDS research and human retroviruses*, 15(4), pp.365–373.
- Kourtis, A.P. et al., 2012. HIV-HBV coinfection-a global challenge. *The New England journal of medicine*, 366(19), pp.1749–52.
- Kramvis, A. & Kew, M.C., 2005. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. *Journal of viral hepatitis*, 12(5), pp.456–64.
- Langö-Warensjö, A., Cardell, K. & Lindblom, B., 1998. Haplotypes comprising subtypes of the DQB1* 06 allele direct the antibody response after immunisation with hepatitis B surface antigen. *HLA*, 52(4), pp.374–380.
- Launay, O. et al., 2016. Long-term immune response to hepatitis B virus vaccination regimens in adults with human immunodeficiency virus 1: secondary analysis of a randomized clinical trial. *JAMA internal medicine*, 176(5), pp.603–610.
- Launay, O. et al., 2011. Safety and immunogenicity of 4 intramuscular double doses and 4 intradermal low doses vs standard hepatitis B vaccine regimen in adults with HIV-1: a randomized controlled trial. *Jama*, 305(14), pp.1432–1440.
- Lavanchy, D., 2004. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *Journal of viral hepatitis*, 11(2), pp.97–107.
- Lederman, M.M. et al., 1998. Immunologic responses associated with 12 weeks of combination antiretroviral therapy consisting of zidovudine, lamivudine, and ritonavir: results of AIDS Clinical Trials Group Protocol 315. *Journal of Infectious Diseases*, 178(1), pp.70–79.
- Lozano, R. et al., 2012. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The lancet*, 380(9859), pp.2095–2128.
- MacLachlan, J.H. & Cowie, B.C., 2015. Hepatitis B virus epidemiology. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(5), p.a021410.
- Malaspina, A. et al., 2005. Compromised B cell responses to influenza vaccination in HIV-infected individuals. *The Journal of infectious diseases*, 191(9), pp.1442–50.

- McMahon, B.J. et al., 2005. Antibody levels and protection after hepatitis B vaccination: results of a 15-year follow-up. *Annals of internal medicine*, 142(5), pp.333–41.
- Ni, J. et al., 2013. Does increased hepatitis B vaccination dose lead to a better immune response in HIV-infected patients than standard dose vaccination: a meta-analysis? *International journal of STD & AIDS*, 24(2), pp.117–122.
- Nikolopoulo, G.K. et al., 2009. Impact of hepatitis B virus infection on the progression of AIDS and mortality in HIV-infected individuals: a cohort study and meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 48(12), pp.1763–1771.
- Nyström, J. et al., 2008. Improved cell mediated immune responses after successful re-vaccination of non-responders to the hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) vaccine using the combined hepatitis A and B vaccine. *Vaccine*, 26(47), pp.5967–5972.
- Ott, J.J. et al., 2012. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine*, 30(12), pp.2212–9.
- Potsch, D.V. et al., 2012. Vaccination against hepatitis B with 4-double doses increases response rates and antibodies titers in HIV-infected adults. *Vaccine*, 30(41), pp.5973–7.
- Pseudos Jr, G. et al., 2010. Efficacy of double-dose hepatitis B rescue vaccination in HIV-infected patients. *AIDS patient care and STDs*, 24(7), pp.403–407.
- Rahman, F. et al., 2000. Cellular and humoral immune responses induced by intradermal or intramuscular vaccination with the major hepatitis B surface antigen. *Hepatology*, 31(2), pp.521–527.
- Rodriguez-Barradas, M.C. et al., 2003. Response of human immunodeficiency virus-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy to vaccination with 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine. *Clinical infectious diseases*, 37(3), pp.438–447.
- Shafran, S. et al., 2007. Poor efficacy of intradermal administration of recombinant hepatitis B virus immunization in HIV-infected individuals who fail to respond to intramuscular administration of hepatitis B virus vaccine. *HIV medicine*, 8(5), pp.295–299.
- Sierra, S., Kupfer, B. & Kaiser, R., 2005. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 34(4), pp.233–44.
- De Silvestri, A. et al., 2001. Family study of non-responsiveness to hepatitis B vaccine confirms the importance of HLA class III C4A locus. *Genes and immunity*, 2(7), pp.367–72.
- Sunbul, M., 2014. Hepatitis B virus genotypes: global distribution and clinical importance. *World journal of gastroenterology: WJG*, 20(18), p.5427.

- Tan, A., Koh, S. & Bertolotti, A., 2015. Immune response in hepatitis B virus infection. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(8), p.a021428.
- Tedaldi, E.M. et al., 2004. Hepatitis A and B vaccination practices for ambulatory patients infected with HIV. *Clinical Infectious Diseases*, 38(10), pp.1478–1484.
- Thio, C.L., 2009. Hepatitis B and human immunodeficiency virus coinfection. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 49(5 Suppl), pp.S138–45.
- Thio, C.L. et al., 2002. HIV-1, hepatitis B virus, and risk of liver-related mortality in the Multicenter Cohort Study (MACS). *The Lancet*, 360(9349), pp.1921–1926.
- Thompson, N.D. et al., 2009. Nonhospital health care-associated hepatitis B and C virus transmission: United States, 1998-2008. *Annals of Internal Medicine*, 150(1), pp.33–39.
- Torbenson, M. et al., 2004. High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 39(1), pp.51–7.
- Trépo, C., Chan, H.L. & Lok, A., 2014. Hepatitis B virus infection. *The Lancet*, 384(9959), pp.2053–2063.
- Tsai, I.-J. et al., 2000. Immunogenicity and reactogenicity of the combined hepatitis A and B vaccine in young adults. *Vaccine*, 19(4-5), pp.437–441.
- UNAIDS, 2016. Global AIDS update 2016. *Geneva: UNAIDS*.
- Veiga, A.P.R., Casseb, J. & Duarte, A.J., 2006. Humoral response to hepatitis B vaccination and its relationship with T CD45RA+ (naive) and CD45RO+ (memory) subsets in HIV-1-infected subjects. *Vaccine*, 24(49-50), pp.7124–7128.
- De Vries-Sluijs, T.E. et al., 2011. A randomized controlled study of accelerated versus standard hepatitis B vaccination in HIV-positive patients. *The Journal of infectious diseases*, 203(7), pp.984–991.
- Weber, R. et al., 2006. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D: A: D study. *Arch Intern Med*, 166(15), pp.1632–41.
- WorldHealthOrganization & others, 2015. Consolidated Guidelines on HIV Testing Services: 5Cs: consent, confidentiality, counselling, correct results and connection 2015.
- Yao, Z.Q. & Moorman, J.P., 2013. Immune exhaustion and immune senescence: two distinct pathways for HBV vaccine failure during HCV and/or HIV infection. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 61(3), pp.193–201.

Zarski, J.P. et al., 1998. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. *Journal of hepatology*, 28(1), pp.27–33.

Zheng, Y. et al., 2011. Should chronic hepatitis B mothers breastfeed? a meta analysis. *BMC public health*, 11, p.502.