

Sağlık Çalışanlarına Profilaksi Amacıyla Uygulanan İki Dozluk Hepatit B Aşısının Etkinliğinin Araştırılması

THE EFFICIENCY OF TWO-DOSE HEPATITIS B VACCINATION IN HEALTH CARE WORKERS FOR IMMUNOPROPHYLAXIS

Dr. Oğuz KARABAY,^a Dr. Ali TAMER,^b Dr. Nevin KOÇ İNCE,^a
Nisa BÜYÜKAHRAZ,^c Dr. Şeref VARDI^b

^aKlinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD, ^bİç Hastalıkları AD, ^cEnfeksiyon Kontrol Hemşiresi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, BOLU

Özet

Amaç: Yapılan çalışmalarda hepatit B profilaksisi amacıyla 4 ay arayla uygulanan 2 doz aşının 3 dozluk şema kadar uygun olduğu gösterilmiştir. Biz bu çalışmada, sağlık personeline uygulanacak 2 doz hepatit B aşısının etkinliğini ve güvenilirliğini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışma İzzet Baysal Tıp Fakültesi sağlık çalışanlarından, HBsAg, anti-HBcIgG ve anti-HBs testleri negatif olan gönüllüler üzerinde yapıldı. Olgular, 2 dozluk ve 3 dozluk aşılamaya gruplarına 1:1 oranında randomize edildi. Çalışma sonunda 2 dozluk grupta 36 ve 3 dozluk grupta 33 olgu vardı. İki dozluk gruba 0. ve 4. aylarda 20 µg, 3 dozluk gruba ise 0, 1 ve 6. aylarda aynı dozda aşı uygulandı. Her 2 grupta da son aşından 2 ay sonra anti-HBs düzeyi kantitatif olarak ölçülerek geometrik ortalama titreleri (GOT) hesaplandı.

Bulgular: İki ve 3 dozluk grupların GOT değerleri sırasıyla 314.5 ve 599.2 IU/mL olarak saptandı (p< 0.01). Aşılamada koruyucu düzeyin altında antikor (anti-HBs<10 IU/mL) saptanan olgu sayısı 2 dozluk grupta 11 iken 3 dozluk grupta sadece 1 olgu idi (p< 0.05). Yan etkiler açısından her 2 grup arasında anlamlı fark saptanmadı (p> 0.05).

Sonuç: Geçmişte yapılan çalışmalarda 2 dozluk şema ile olumlu sonuçlar alınmasına rağmen, çalışmamızda hepatit B profilaksisi amacıyla 0. ve 4. aylarda yapılan 2 dozluk aşılamasının, standart şema kadar etkin olmadığı saptanmıştır. Konu ile ilgili, daha fazla olgu sayıları içeren, yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Hepatit B, aşılamada

Abstract

Objective: Previous studies showed that 2 dose vaccinations 4 months apart were as effective as 3 dose vaccination schedules. In this study, we aimed to investigate the reliability and efficiency of 2 doses of Hepatitis B vaccine in health care workers.

Material and Methods: Two dose and 3 dose vaccination groups who were negative for HBsAg, anti-HBcIgG and anti-HBs were selected among health care workers working in the İzzet Baysal Medical Faculty and were randomized in a 1:1 ratio. The 2 dose group included 36 subjects and 33 subjects were present in the 3 dose group. The 2 dose group was vaccinated with 20 µg of vaccine at 0 and 4 months and the same dose was administered to the 3 dose group at 0, 1, and 6 months. Geometric Mean Titers (GMT) were calculated by measuring the level of anti-HBs quantitatively 2 months after the last shot in both groups.

Results: GMT values of the 2 and 3 dose groups were determined as 314.5 and 599.2 IU/mL, respectively (p< 0.01). While the number of subjects with antibody titers under the protective level (anti-HBs<10 IU/mL) was 11 in the 2 dose group, only 1 patient in the 3 dose group had low antibody levels at the end of the vaccination schedule (p< 0.05). No significant difference was observed in terms of adverse effects between the 2 groups (p> 0.05).

Conclusion: Although encouraging results were obtained in recent studies, the 2 dose vaccination schedule at 0 and 4 months used in our study for hepatitis B prophylaxis in health care workers was not as effective as the standard schedule. Thus, larger studies are required.

Key Words: Hepatitis B, vaccination

Turkiye Klinikleri J Med Sci 2006, 26:24-28

Geliş Tarihi/Received: 22.02.2005 Kabul Tarihi/Accepted: 11.11.2005

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Oğuz KARABAY
Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi,
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD,
14280, BOLU
drkarabay@yahoo.com

Copyright © 2006 by Türkiye Klinikleri

Hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu dünyada yaygın ve önemli bir sağlık problemidir. Dünya nüfusunun yaklaşık %5'i HBV taşıyıcısı ve taşıyıcıların %25'inde kronik aktif hepatit geliştiği tahmin edilmektedir.^{1,2} Sağlık

personeli, Hepatit B Virüsü (HBV), Hepatit C Virüsü (HCV) ve "Human Immunodeficiency Virus (HIV)" gibi kan yoluyla bulaşan etkenler açısından yüksek risk grubundadır.^{3,4}

1992 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Uluslararası Çalışma Örgütü (ILO) HBV'yi sağlık personeli için meslek hastalığı olarak kabul etmiştir. ABD ve Avrupa Topluluğu riskli personele ücretsiz ve zorunlu hepatit B aşısı uygulanmasını önermişlerdir.² Hepatit B profilaksisinde 0, 1. ve 6. aylarda yapılacak 3 doz aşının yaklaşık %90 oranında güvenilir olduğu gösterilmiştir. Ancak maddi kaynakları sınırlı birçok ülkede, risk gruplarına uygulanacak hepatit B aşı maliyeti önemli bir ekonomik yüke neden olmakta, bu nedenle risk gruplarını da kapsayacak aşılamaya programları oluşturulamamaktadır. Yakın zamanda ergenler üzerinde yapılan bir çalışmada 0.- 4. ve 0.-6. aylarda yapılan 2 dozluk aşılamaya 3 dozluk aşı kadar etkin olduğu gösterilmiştir.⁵ Biz bu çalışmada, daha önce aşılanmamış ve hepatit B göstergeleri negatif olan sağlık personeli olgularında 2 ve 3 dozluk aşı şemalarının etkinlik ve güvenilirliğinin ortaya konulmasını amaçladık.

Gereç ve Yöntemler

Bu çalışma, Nisan 2003 ve Ocak 2005 tarihleri arasında İzzet Baysal Tıp Fakültesi'nde yapılmıştır. Çalışmaya katılan tüm olgular bilgilendirildikten sonra yazılı onayları alınmıştır. Çalışma, İzzet Baysal Tıp Fakültesi Etik Komitesi tarafından incelenmiş ve onaylanmıştır.

Olgular

Çalışma olguları; HBsAg, anti-HBc IgG ve anti-HBs göstergeleri negatif olan İzzet Baysal Tıp Fakültesi çalışanlarından seçildi. Tüm olgulara ardışık protokol numarası verildi. Tek numaralı olgular 2 dozluk aşı grubuna, çift numaralı olgular ise 3 dozluk aşı grubuna, 1:1 oranında randomize edildi. Vücut kitle indeksi (VKİ) Erickson ve ark.nın tarif ettiği formülle hesaplandı.⁶ VKİ>30 kg/m² olarak saptanan olgular obez olarak tanımlandı.

Aşılamaya

Bu çalışmadaki aşılama TC Sağlık Bakanlığı Bolu İl Sağlık Müdürlüğü'nün desteğiyle temin

edilmiştir. Aşılamada 20 µg HBsAg içeren Euvax B (Berk İlaç-Türkiye) kullanıldı. Aşılama deltoid kas içine, 1-inch'lik enjektör kullanılarak yapıldı. Hepatit B aşısı, 2 dozluk gruptakilere 0. ve 4. aylarda, 3 dozluk gruptakilere ise 0, 1. ve 6. aylarda yapıldı. Uygulayıcıya bağlı hataları en aza indirmek amacıyla aşılama aynı uygulayıcı tarafından yapıldı.

Serolojik testler

Olgulardan 8 mL toplardamar kanı alınarak serumları ayrıldı ve çalışma gününe kadar -20°C'de saklandı. Aşılamaya öncesinde, olguların serumlarında; HBsAg, anti-HBc-IgG ve anti-HBs göstergelerinin varlığı ticari ELISA kitleriyle (Abbott Laboratories, IL, USA) araştırıldı. Üç göstergesi de negatif saptanan olgular aşılandı. Son aşından 2 ay sonra anti-HBs düzeyi kantitatif olarak ölçüldü. Anti-HBs titresi ≤10 mIU/mL olanlar aşıya yanıt-sız, 10-100 mIU/mL arasında olanlar düşük cevaplı ve >100 mIU/mL olanlar tam cevaplı olarak kabul edildi.⁷ Ayrıca her 2 grubun anti-HBs titreleri Geometrik Ortalama Titre (GOT) şeklinde hesaplandı.

Yan etki değerlendirilmesi

Aşı uygulaması sonrasında her olgu lokal (ağrı, enjeksiyon yerinde kızarıklık, şişme) ve sistemik (baş ağrısı, grip benzeri tablo, bulantı, kusma, ishal, baş dönmesi, terleme) yan etkiler açısından 5 gün boyunca izlenerek, bulguları kaydedildi. Ayrıca, olgular, aşılamadan 14 gün sonrasına kadar olası yan etkiler açısından sorgulandı.

Dışlanma kriterleri

Daha önceden viral hepatit göstergelerinde pozitifliği olan, ilaç ya da uyuşturucu bağımlılığı olan ve böbrek yetmezliği ya da diyabet hikayesi olan olgular çalışma dışında bırakıldı.

İstatistiksel değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmede 2 doz grubu ile 3 doz grubu arasındaki karşılaştırmalarda χ^2 (ve gerektiğinde Yates düzeltilmiş χ^2 testi) ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı. İstatistiksel hesaplamada Epi-info 6.0 adlı paket program (Centers for Disease Control, Atlanta, USA) kullanıldı. p < 0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Sonuçlar

Çalışma dönemi içinde her 2 gruba 36'şar olmak üzere toplam 72 olgu alındı. Üç dozluk aşı grubundaki olgulardan 3'ü çalışma dışında (1'i olgunun isteğiyle, diğer 2'si başka bir şehre nakil nedeniyle) bırakıldı. Çalışma dönemi sonunda 2 dozluk grupta 36 ve 3 dozluk grupta 33 olmak üzere toplam 69 olgunun sonuçları değerlendirildi.

İki ve 3 dozluk aşı gruplarının demografik özellikleri (yaş, cinsiyet, obezite varlığı, sigara kullanımı) karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Aşılamadan 2 ay sonra bakılan anti-HBs düzeyleri incelendiğinde 2 dozluk aşılama grubunda anti-HBs için GOT 314.5 IU/mL ve 3 dozluk aşı grubunda 599.2 IU/mL saptandı ($p < 0.01$). Aşılama sonrasında 2 dozluk aşılama grubunda 11 olgu yanıtızken 3 dozluk aşılama grubunda sadece 1 olgu yanıtızdı ($p < 0.05$).

Her 2 grup arasındaki lokal ve sistemik yan etkiler incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). 2005 yılı için yaklaşık aşı maliyeti 2 dozluk aşı grubunda 36 YTL ve 3 dozluk aşı grubunda 54 YTL olarak hesaplanmıştır. Her 2 gruba ait demografik ve aşılamaya bağlı özellikler Tablo 1, 2 ve 3'te sunulmuştur.

Tartışma

Hepatit B yüzey antijenine karşı duyarlılaşan B hücreleri, antijenle tekrar karşılaştığında, ya hafıza B hücreleri ya da plazma hücreleri yoluyla özgün antikor salgılayan hücreler haline dönüşürler. Plazma hücreleri kısa ömürlü olmasına rağmen, hafıza B hücrelerinin uzun ömürlü olduğu

Tablo 1. İki ve 3 dozluk grupların demografik özelliklerinin karşılaştırılması.

| Parametre | 2 doz grubu n (%) | 3 doz grubu n (%) | p değeri |
|------------------------------------|-------------------|-------------------|----------|
| Olgu sayısı (n) | 36 | 33 | |
| Cinsiyet (Kadın) | 13 (36.1) | 14 (42.4) | > 0.05 |
| Yaş | 31.1 | 28.7 | > 0.05 |
| Obezite VKI > 30 kg/m ² | 2 (6.0) | 3 (9.0) | > 0.05 |
| Sigara içen olgu sayısı | 16 (50) | 19 (59) | > 0.05 |

Tablo 2. İki ve 3 dozluk grupların anti-HBs yanıtlarının karşılaştırılması.

| Parametre | 2 doz grubu n (%) | 3 doz grubu n (%) | p değeri | |
|-----------|-------------------|-------------------|-----------|---------|
| Anti-HBs | GOT (IU/mL) | 314.5 | 599.2 | 0.00228 |
| | <10 IU/mL (n) | 11 (30.5) | 1 (3.0) | |
| | 10-100 IU/mL (n) | 5 (13.9) | 7 (21.2) | 0.012 |
| | >100 IU/mL (n) | 20 (55.5) | 25 (75.8) | |

Tablo 3. İki ve 3 dozluk grupların yan etki ve maliyet özelliklerinin karşılaştırılması.

| Parametre | 2 doz grubu n (%) | 3 doz grubu n (%) | p değeri | |
|-------------|----------------------|-------------------|-----------|--------|
| Yan Etkiler | Lokal yan etkiler | 21 (58.3) | 19 (57.6) | > 0.05 |
| | Sistemik yan etkiler | 4 (11.1) | 2 (6.0) | > 0.05 |
| Maliyet | Toplam maliyet (YTL) | 36 | 54 | |

vurgulanmaktadır.⁸ 0, 1. ve 6. aylarda uygulanan 3 dozluk aşılama şemasının sağlıklı erişkinlerin %90'ının üzerinde koruyucu antikor titresini oluşturduğu gösterilmiştir.^{9,10} Aşılamadan sonra antikor düzeyi ölçülebilecek düzeylerin altına inerse de virüsle karşılaştığında koruyucu immün hafıza sayesinde, etkin bir korunma sağlanabilmektedir.¹¹

Sağlık çalışanları aşılama ile önlenemeyen pek çok hastalık açısından risk altındadır. Hepatit B virüs enfeksiyonu sağlık personeli için ciddi bir meslek hastalığıdır. Buna rağmen batı ülkelerinde yapılan çalışmalarda bile sağlık personelinde ki aşılama oranının istenen düzeyde olmadığı saptanmıştır. Aynı sorun büyük olasılıkla ülkemiz için de geçerlidir.¹² Aşılamadan getirdiği mali yük, sağlık çalışanlarının aşılama sırasında en büyük engellerden biridir. Bu araştırmaya başlarken, 2 dozluk aşılama ile yeterince etkin olduğu gösterilebilirse; hepatit B aşılama maliyetini düşürülebileceği ve daha az kaynakla daha fazla insanın aşılama-na katkı sağlayabileceği düşünülmüştü.

Birçok çalışmada yaş, cinsiyet obezite varlığı ve sigara içimi gibi demografik faktörler hepatit B aşısına yanıtı etkileyen faktörler olarak belirtilmiş-

tir.^{9,13} Çalışmamızda 2 grup arasında yaş, cinsiyet, VKİ ve sigara içimi açısından anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).

Çocuklar üzerinde yapılan çalışmalarda 2 dozluk aşılamanın standart aşılama kadar etkin olduğu saptanmıştır.¹⁴ Gellin ve ark. tarafından erişkinlerde yapılan, 2 ve 3 dozluk aşı gruplarını karşılaştırdıkları çalışmada (3 dozluk gruba 0, 1. ve 6. ay 10 µg, 2 dozluk gruba 0. ve 4. ay 20 ve 40 µg) ilk aşı dozundan 7 ay sonra bakılan ortalama titreler; 20 µg dozda aşı uygulanan 2 doz grubunda 174.2 IU/mL iken, 3 doz grubunda 536.4 IU/mL saptanmıştır.¹⁵ İki ve 3 dozluk aşı gruplarında koruyucu antikor titresine sahip olgu sayısı sırasıyla %80 ve %89.7 olarak saptanmıştır. Oysa çalışmamızda GOT 2 ve 3 dozluk gruplarda sırasıyla 314.5 ve 599.2 IU/mL iken, koruyucu antikor titresine sahip olgu sayısı sırasıyla %69.5 ve %97.0 olarak saptanmıştır ($p < 0.05$). Gellin ve ark.nın çalışmasındaki olgu sayısı çalışmamızdakine yakındır. Her 2 çalışmada ortalama titre sonuçları benzerdir. Ancak Gellin ve ark. çalışmasında, aşılama sonrası yeterli antikor cevabı oluşturmayan (anti-HBs < 10 IU/mL) olgu sayısı 2 ve 3 dozluk gruplar arasında farksızken, çalışmamızda 2 dozluk grupta anlamlı derecede yüksekti. İki çalışma arasındaki bu fark, Gellin ve ark.nın 3 dozluk gruba daha düşük dozda (10 µg) antikor vermelerine bağlı olabilir. Hindistan da yapılan bir çalışmada 119 gebeye, 2 doz ve 3 doz (20 µg) aşı uygulanmış ve doğumdan 2 ay sonra bakılan GOT titreleri, 2 doz grubunda 87 IU/mL ve 3 doz grubunda 126 IU/mL olarak tespit edilmiştir ($p < 0.001$).¹⁶ Doğum sonrasında bebeklerden alınan kan örneklerinde 2 dozluk gruptaki anti-HBs titresini 45.6 IU/mL ve 3 dozluk grupta 94.1 IU/mL saptanmış ve 3 doz aşı yapılan olguların bebeklerine antikor geçirme oranı %100 iken 2 dozluk grupta bu oran %66 olarak bildirilmiştir ($p < 0.001$).

Kurugöl ve ark. tarafından ortalama yaşları 10 olan 100 çocuğun alındığı çalışmada; çocuklara hepatit A ve B kombine aşısı (Twinrix Adult, Smith Kline Beecham) 2 ya da 3 dozda uygulanmış, her iki şemanın etkinlik, güvenilirlik ve yan etki profili incelenmiştir.¹⁷ Yedi ay sonra bakılan

anti-HBs düzeyleri karşılaştırılmış, 2 ve 3 dozluk gruplar arasında anlamlı fark bulunmamış, ancak 2 dozluk aşılama şemasının daha az enjeksiyon sayısı ile hasta uyumunu arttırdığı ve aşılama maliyetini düşürdüğü vurgulanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları ile çalışmamız karşılaştırıldığında Kurugöl ve ark. yaş ortalaması 10 olan bir grupta çalışmışken, olgularımızın ortalama yaşları 30'du. Ayrıca olgularımız, VKİ ve sigara içimi gibi aşılama için negatif yönde etkileyecek faktörlere sahipti.

Çalışmamızla, geçmişteki çalışmalar arasındaki uyumsuzluğun bir nedeni de; farklı çalışmalarda kullanılan aşılama antijenik içeriklerindeki farklılığa bağlı olabilir.¹⁸ Bu nedenle daha net bir yargıda bulunabilmek için daha fazla denek içeren yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

İki dozda uygulanacak aşılama şemasının; aşılama maliyetini azaltması, aşılama uyumu artırması ve daha az yan etki riski taşıması gibi avantajları olacağı düşünülebilir. Bekleneceği gibi 2 dozluk aşılama şemasının maliyeti 3 dozluk aşılama şemasından düşüktü. Ancak bulgularımıza göre 2 ve 3 dozluk aşı grupları lokal ve sistemik yan etkiler açısından karşılaştırıldığında her 2 grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Sonuç olarak bu çalışmada, hepatit B profilaksisi için 0. ve 4. aylarda uygulanan 2 dozluk aşılama ile, 0, 1. ve 6. aylarda uygulanan 3 dozluk aşılama arasında yan etki profili açısından fark saptanmamıştır. İki dozluk şema yaklaşık %70 olguda koruyucu antikor düzeyini oluşturmasına rağmen, 3 dozluk şema kadar etkin bulunmamıştır. Erişkinler üzerinde yapılan bu çalışmanın sonuçlarıyla, geçmişte çocuklar üzerinde yapılan çalışmaların sonuçları arasında etkinlik yönünden fark saptanmıştır. Bu konuda, erişkinler üzerinde ve daha fazla olgu sayıları içeren yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Teşekkür

Bu çalışmada, kullanılan aşılama temin edilmesinde gösterdiği destekten dolayı Bolu İl Sağlık Müdürlüğü'ne teşekkür ederiz. Ayrıca; istatistik değerlendirmelerdeki yardımlarından dolayı Sn. Dr. Hasan Ekerbiçer'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Robinson WS. Hepatitis B virus and hepatitis D virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4th ed. New York: Churchill Livingstone; 1995. p.1406-21.
2. Balık İ. Hepatit B epidemiyolojisi. In: Kılıçturgay K, ed. *Viral Hepatit 94*. 2. Baskı. İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği; 1994. p.91-101.
3. Lum D, Mason Z, Meyer-Rochow G, et al. Needle stick injuries in country general practice. *N Z Med J* 1997;110:122-5.
4. Beltrami EM, Williams IT, Shapiro CN, Chamberland ME. Risk and management of blood-borne infections in health care workers. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:385-407.
5. Cassidy WM, Watson B, Ioli VA, Williams K, Bird S, West DJ. A randomized trial of alternative two- and three-dose hepatitis B vaccination regimens in adolescents: Antibody responses, safety, and immunologic memory. *Pediatrics* 2001;107:626-31.
6. Erickson SJ, Robinson TN, Haydel KF, Killen JD. Are overweight children unhappy?: Body mass index, depressive symptoms, and overweight concerns in elementary school children. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2000;154:931-5.
7. Wiedmann M, Liebert UG, Oesen U, et al. Decreased immunogenicity of recombinant hepatitis B vaccine in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000;31:230-4.
8. Schitteck B, Rajewsky K. Maintenance of B-cell memory by long-lived cells generated from proliferating precursors. *Nature* 1990;346:749-51.
9. Hollinger FB. Factors influencing the immune response to hepatitis B vaccine, booster dose guidelines, and vaccine protocol recommendations. *Am J Med* 1989;87:S36-40.
10. Alimonos K, Nafziger AN, Murray J, Bertino JS, Jr. Prediction of response to hepatitis B vaccine in health care workers: Whose titers of antibody to hepatitis B surface antigen should be determined after at three-dose series, and what are the implications in terms of cost-effectiveness? *Clin Infect Dis* 1998;26:566-71.
11. West DJ, Calandra GB. Vaccine induced immunologic memory for hepatitis B surface antigen: Implications for policy on booster vaccination. *Vaccine* 1996;14:1019-27.
12. Akova M. Erişkinde bağışıklama. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni* 2002;1:2-6.
13. Young MD, Gooch WM 3rd, Zuckerman AJ, Du W, Dickson B, Maddrey WC. Comparison of a triple antigen and a single antigen recombinant vaccine for adult hepatitis B vaccination. *J Med Virol* 2001;64:290-8.
14. Marsano LS, West DJ, Chan I, et al. A two-dose hepatitis B vaccine regimen proof of priming and memory responses in young adults. *Vaccine* 1998;16:624-9.
15. Gellin BG, Greenberg RN, Hart RH, et al. Immunogenicity of two doses of yeast recombinant hepatitis B vaccine in healthy older adults. *J Infect Dis* 1997;175:1494-7.
16. Gupta I, Ratho RK. Immunogenicity and safety of two schedules of Hepatitis B vaccination during pregnancy. *J Obstet Gynaecol Res* 2003;29:84-6.
17. Kurugol Z, Mutlubaş F, Ozacar T. A two-dose schedule for combined hepatitis A and B vaccination in children aged 6-15 years. *Vaccine* 2005;23:2876-80.
18. Most J, Larcher C, Vogetseder W, et al. Recombinant versus plasma-derived hepatitis B vaccine: Comparison of immunogenicity in medical students. *Vaccine* 1992;10:740-1.