

Účinnost chřipkových vakcín

RNDr. Marek Petráš

Světová zdravotnická organizace (SZO) vždy v únoru každého roku vydává doporučení k použití výrobních vakcinačních chřipkových kmenů pro následující chřipkovou sezónu. Toto doporučení vychází z analýzy dat poskytovaných více než stovkou laboratoří po celém světě, které se účastní sledování globálního výskytu chřipky. Během roku se chřipkové viry třídí a vybírají se chřipkové virové izoláty, jenž se zasílají do tří světových center SZO: ve Spojených státech, Anglii a Austrálii. Tímto způsobem se monitorují genetické změny cirkulujících chřipkových kmenů. Doporučené vakcinační kmeny vycházejí nejen z virologických a epidemiologických dat, ale i z možností stávajících výrobních vakcinačních kmenů, které poskytnout odpovídající imunitní odpověď vůči předpokládanému chřipkovému kmeni.

Chřipkové vakcíny

Dnešní chřipkové vakcíny vždy obsahují tři virové kmeny, které nejčastěji reprezentují jejich celosvětový výskyt: A/H1N1, A/H3N2 a typ B. Všechny typy inaktivovaných chřipkových vakcín se připravují pomnožením viru na embryo-

novaných slepičích vejcích, které se dále čistí pásmovou centrifugací nebo chromatograficky. Celovirionové částice se inaktivují formalínem nebo beta-propionlaktone. Celovirionová suspenze se smíchá s organickým rozpouštědlem nebo detergentem, tím dojde k porušení

lipidové virové obálky a uvolní se rozpustné povrchové glykoproteiny. Při přípravě tzv. splitové vakcíny se zpravidla používá éter, kterým se virion „rozštěpí“, vakcína tak obsahuje všechny virové strukturální membránové proteiny. Naopak subjednotkové vakcíny obsahují hemaglutinové antigenní monomery agregované sté-látem. Kromě hemaglutininu bývají obohaceny navíc i neuraminidázou a reziduálními interními virovými strukturálními proteiny. Splitové (neboli štěpené) a subjednotkové vakcíny jsou díky své selektivnosti antigenů významně méně „toxic-ké“ neboli reaktogenní než celovirionové vakcíny. I když některé studie naznačily sníženou imunogenitu těchto vakcín vzhledem k celovirionové vakcíně, v obecné míře to nikdy nebylo prokázáno. Každá komerční vakcína obsahuje standardně v jedné dávce (0,5 ml) minimálně 15 µg virového hemaglutininu každého vakcínačního kmene v jedné dávce (0,5 ml).

V posledních letech se užívá i další rozšířená verze subjednotkové chřipkové vakcíny, která obsahuje subjednotkové antigeny (hemaglutinin) vázané na adjuvantní emulzi MF-59. Tato vakcína je cíleně indikována zejména osobám starším 65 let, u kterých vyvolává vyšší imunitní

odpověď než standardní subjednotková vakcína a je jimi dobře tolerována. Naopak její imunogenita je téměř shodná s tradiční subjednotkovou vakcínou u osob mladších 60 let, u kterých však vyvolává více nežádoucích účinků. U dětí tato vakcína nebyla klinicky hodnocena, a proto by neměla být používána pro očkování dětí. Vývoj chřipkových vakcín však pokračuje a na základě splitových vakcín se připravuje podobná vakcína, jejichž chřipkové vakcinační kmeny se pomnožují na VERO buňkách.

Vzhledem k tomu, že tento typ inaktivovaných vakcín neumí vyvolat slizniční imunitu (významnou při prevenci respiračních onemocnění) a v případě buněčné imunity hraje jen okrajovou roli, několik desítek let se vyvíjely živé chřipkové vakcíny. První registrovaná živá atenuovaná vakcína proti chřipce je od roku 2005 k dispozici v USA pod názvem FluMist. Jde o živou trivalentní intranazálně podávanou vakcínu.

Původní kroky její výroby byly založeny na dvou stále se oslabujících master virech (MDV), jeden typu A a druhý typu B chřipkových virů. Oba dva MDV viry se získaly mnohonásobnou pásážovou adaptací za studena jako teplotně citlivé atenuované fenotypy. Vakcinační viry jsou přetříděné viry obsahující geny z původních MDV, které zajišťují atenuaci, teplotní citlivost a chladovou adaptaci, a dále geny z doporučeného současného divokého typu chřipkového viru, kódující povrchové antigeny hemaglutininu (HA) a neuraminidázy (NA). Tímto MDV nadále poskytují stabilní atenuovaný nosič pro aktuální verzi HA a NA chřipkových antigenů, vůči kterým se vyvolá protilátková odpověď. Takto přetříděné vakcinační viry se pomnožují na kuřecích embryích. V posledním kroku výroby se očkovací látka rozplní do rozprašovače pro nosní podání. Vakcína však musí být skladována při teplotě nižší -15 °C.

Díky tomu, že jsou vakcinační viry živé a adaptované za chladu, neztrácejí své replikační vlastnosti při teplotě +25 °C, což umožňuje vyvolat protektivní imunitu v nosohltanu a zamezit tak dalšímu šíření divokých chřipkových virů při vstupu do respiračního traktu.

Imunogenita živé atenuované chřipkové vakcíny byla potvrzena řadou studií, jak u dětí, tak u dospělých osob. Klinické studie ověřily, že k replikaci těchto atenuovaných vakcinačních virů dochází v epitelálních buňkách v nosohltanu. Protektivní mechanismus vyvolaný tímto očkováním není ještě kompletně prozkoumán, ale zdá se, že zahrnuje oba typy

protilátek, tj. jak sérové, tak sekreční. Dosud nebyla stanovena korelace mezi protektivní imunitou vyvolanou touto živou vakcínou a její klinickou účinností.

Dostupná data ukazují, že jak děti, tak dospělé osoby mohou šířit vakcinační viry i po více než 2 dnech po očkování, i když v koncentraci mnohem nižší než je typická pro šíření divokých chřipkových virů. Toto šíření vakcinačních virů však nelze srovnávat s přenosem vakcinačních virů z člověka na člověka, ke kterému dochází jen v ojedinělých případech. V současné době je tato vakcína určena pro osoby ve věku 5–49 let, včetně osob, které jsou v blízkém kontaktu s rizikovými skupinami. Jako významnou přednost této vakcíny lze považovat vyvolání široké slizniční a systémové imunitní odpovědi, snadné podávání a vyšší akceptovatelnost nazálního podání vůči injekčnímu podání.

Imunogenita chřipkových vakcín

I když je protekce vůči chřipce zprostředkována zejména sérovými protilátkami, rovněž slizniční IgA protilátky a buněčná imunita k získané protekci přispívají. Sekreторické IgA protilátky dosahují svého maxima asi 14 dní po infekci a mohou být přítomny ve slinách, nosních sekretech, sputu a tracheálním vzorku. Zhruba po 1–2 týdnech po primární infekci bývají v sérech pacientů prokazatelné specifické protilátky vůči neuraminidáze (stanovené pomocí neutralizační nebo hemaglutinační inhibice), které svého vrcholu dosahují asi 3–4 týdny po infekci. Po reinfekci se protilátková odpověď významně urychlí. Specifické protilátky získané po očkování nebo po prožití chřipky zpravidla perzistují několik měsíců až let (obvykle do 2 let po očkování), avšak u některých zejména vysoce rizikových skupin osob (chronicky nemocní a osoby starší 60 let) mohou tyto hladiny významně klesat již během několika měsíců po očkování (během 5–12 měsíců rychle klesá hladina specifických IgG protilátek). Přítomnost hemaglutinačních titrů protilátek vyšších než 1:40 (nebo neutralizačních titrů 1:8) koreluje velmi dobře se získanou imunitou. U starších osob se považuje titr hemaglutinačních protilátek vyšší než 1:80 za protektivní.

Nejčastěji používanou metodou pro stanovení specifických protilátek je hemaglutinační inhibice (HI), a to především z důvodu její standardizace a dostupnosti v laborato-

řích. Má však své limity a nebývá citlivá vůči chřipkovým kmenům, které jsou jen málo reaktivní, zejména vůči typům B. Je-li její titr větší než 1:10–1:12, pak specifické protilátky jsou přítomny, jsou-li však hodnoty titrů vyšší než 1:40–1:48, pak jsou tyto hladiny protilátek považovány za protektivní.

Jako vhodnější metoda stanovení protilátek se ukazuje radiální imunohemolýza (SRH, IER), která hemaglutinační inhibici může spolehlivě nahradit. Navíc nevyžaduje další úpravu chřipkových antigenů (odstranění nespecifických inhibitorů), splňuje dostatečnou citlivost, a to i pro viry typu B. Za protektivní hladiny specifických protilátek jsou považovány takové koncentrace, které vyvolají plochu hemolýzy v hodnotách větších než 20–25 mm² pro chřipkový virus typu A (H3N2 a H1N1) a 40–45 mm² pro chřipkový virus typu B. Dojde-li k více než 50% zvětšení plochy hemolýzy v sérech před a po očkování, pak je nárůst hladin protilátek považován za významný.

Podobně jako hemaglutinační inhibice i radiální imunohemolýza je metoda citlivá k výběru použitého chřipkového kmene, a proto se mohou výsledky jednotlivých stanovení v různých laboratořích od sebe vzájemně lišit. Mimo to výsledek stanovení specifických protilátek ovlivňuje původní imunitní stav stejně jako věk očkové osoby.

Podle evropského hodnocení kvality účinnosti chřipkových vakcín by očkování mělo vést u více než 70% osob mladších 60 let a u více než 60% osob starších 60 let k hladinám hemaglutinačních protilátek vyšším než 1:40. Přitom po očkování by mělo dojít k více než 4násobnému nárůstu hladin protilátek.

Klinická účinnost očkování proti chřipce

Účinnost očkování proti chřipce byla hodnocena a sledována již od 40. let minulého století. Ukazuje se, že kontrolované studie lépe vystihují účinnost chřipkových vakcín než rozsáhlé otevřené studie, které spíše častěji podceňují skutečnou klinickou účinnost vakcíny v prevenci onemocnění, komplikací a úmrtí. Tyto „pozorovací“ studie snáze postihnou počet dní hospitalizace nebo počet hospitalizací, úmrtí z důvodu pneumonie ve skupině očkových a neočkových proti chřipce v období známé chřipkové aktivity. Avšak ne všechny příčiny jsou dány chřipkou, což má pak za následek podcenění účinnosti vakcíny.

Účinnost chřipkové vakcíny závisí zejména na věku a schopnosti očkovance si vytvořit imunitní odpověď na toto očkování a dále na podobnosti vakcinačních kmenů chřipky s kmeny chřipky, které cirkulují danou sezónu. Zpravidla si většina očkovaných dětí a dospělých osob vytváří vysoké postvakcinační hladiny hemaglutinačních protilátek. Tyto titry protilátek bývají protektivní vůči onemocnění vyvolanému chřipkovými viry podobných kmenů, jako jsou vakcinační kmeny.

Odhaduje se, že klinická účinnost očkování proti chřipce (za předpokladu, že vakcinační kmeny jsou ve shodě s cirkulujícími kmeny chřipky) dosahuje 70–90% u dospělých osob mladších 65 let. Očkování mimo jiné vede ke snížení pracovní neschopnosti a využívání zdravotní péče, včetně spotřeby antibiotik. Účinnost vakcín se odhaduje na 60–95% vůči laboratorně potvrzeným případům chřipky. U zdravých dětí tato účinnost dosahuje až 66% snížení všech laboratorně potvrzených případů chřipky.

I když u dětí ve věku 6 měsíců bývá imunitní odpověď po očkování proti chřipce nižší než

u starších dětí, bývají jejich hladiny protilátek nad protektivní mezí. V randomizované studii u dětí ve věku 1–15 let dosahovala klinická účinnost vůči chřipkovému respiračnímu onemocnění 77–91%. U dětí ve věku 1–5 let byla tato účinnost 44–49%, ve věku 6–10 let 74–76% a ve věku 11–15 let 70–81%. Obdobné výsledky účinnosti v závislosti na věku očkovaných dětí ukázaly i další studie, ve věku 3–9 let byla účinnost 56%, ve věku 2–6 let 22–54% a ve věku 7–14 let 60–78%. Studie zaměřené na incidenci zánětu středouší v souvislosti s chřipkou u malých dětí prokázaly její snížení o zhruba 30%.

U starších osob a osob s chronickým onemocněním může dojít ke snížené imunitní odpovědi po očkování ve srovnání s mladými dospělými osobami, což může vést k zachování jejich vnímavosti k onemocnění horních cest dýchacích v souvislosti s chřipkou. Jedna taková randomizační studie ukázala, že klinická účinnost očkování proti chřipce u osob starších 60 let dosahovala 58% vůči chřipkovému respiračnímu onemocnění. Mimo to však u osob starších 70 let může být tato

účinnost ještě významně nižší. Toto očkování může kromě přímého účinku hrát i sekundární roli v prevenci komplikací, hospitalizací a úmrtí u osob starších 65 let. U starších osob žijících mimo pečovatelská centra vede očkování proti chřipce k 30–70% snížení hospitalizací z důvodu pneumonie a chřipky. U těchto starších osob, které žijí v pečovatelském zařízení, se účinnost očkování naopak významně zvyšuje až na 50–60% v prevenci hospitalizace nebo pneumonie a až na 80% v prevenci úmrtí. Metaanalýza dat z výsledků 20 klinických studií, provedená v roce 1995 přinesla odhad účinnosti očkování proti chřipce u starších osob: 56% účinnost vůči respiračním onemocněním, 53% účinnost vůči pneumonii, 50% snížení nutnosti hospitalizace a 68% snížení úmrtí v souvislosti s chřipkou.

Klinická účinnost očkování proti chřipce byla potvrzena i ve studii u zdravotníků, kdy po očkování došlo ke snížení počtu případů onemocnění a počtu dní strávených s onemocněním. Navíc se potvrdilo, že toto cílené očkování vede i ke snížení mortality u dlouho hospitalizovaných pacientů.

Očkování proti chřipce u těhotných žen snižuje jednu až dvě hospitalizace z 1 000 těhotných žen, a to z důvodu kardiopulmonálních onemocnění ve druhém nebo třetím trimestru v souvislosti s chřipkou.

Souhrn

a) účinnost splitové a subjednotkové vakcíny

Nikdy nebyl prokázán jednoznačný rozdíl v účinnosti obou typů vakcín, i když existují různé názory nebo pohledy na oba dva typy vakcín. Oba typy lze tedy považovat za stejně účinné pro všechny věkové skupiny. Existují i názory, že je vhodnější podávat subjednotkovou vakcínu dětem ve věku 6 měsíců až 3 roky a naopak splitovou vakcínu přednostně aplikovat osobám starším 60 let. Tyto názory však nejsou opodstatněné ani z hlediska jejich tolerance či bezpečnosti. V rozsáhlé studii na souboru větším než 16 000 očkovaných se dokonce ukázalo, že splitová vakcína byla u malých dětí lépe tolerována než subjednotková. Vzhledem k charakteru každoroční obměny chřipkových vakcín, a tedy i možnosti jisté variability v jejich bezpečnosti, ztrácí význam jakéhokoli dílčího sezónního srovnání té či jiné komerční chřipkové vakcíny.

b) účinnost očkování v závislosti na věku očkovance

Skutečně byly pozorované rozdíly a to zejména mezi osobami mladšími 60 let

a staršími 60 let. Mimo to se ukázalo, že děti ve věku 6 měsíců až 3 let mívají nejen nižší imunitní odpověď, ale i ochrana očkováním je nižší než u dětí starších 3 let. Ochrana očkováním dětí s věkem roste a nejvyšší lze očekávat ve věku 15–60 let.

c) účinnost komerčních vakcín

Vzhledem k tomu, že výrobci zpravidla používají „pouze“ vakcinační kmény podobné těm, které byly Světovou zdravotnickou organizací vyhlášeny pro danou chřipkovou sezónu, může se stát, že některá vakcína může být „účinnější“ než druhá v dané chřipkové sezóně. Tyto rozdíly však nebývají statisticky významné a dílčí rozdíly jsou přípustné. Na toto téma vznikla řada českých studií sledující imunogenitu různých komerčních vakcín během různých chřipkových sezón. Žádná z těchto studií nepřinesla jednoznačně prokazatelný výsledek v odlišnosti imunogenity komerčních vakcín. Tento závěr bylo možné předpokládat: k diagnostice specifických protilátek se používají jen laboratorní chřipkové kmény podobné těm, které byly SZO vyhlášené a záleželo tedy spíše na výrobci, jak se trefí více či méně do podobnosti zvoleného laboratorního kmene. Stanovení se provádělo hemaglutinační inhibicí, jejíž citlivost bývá omezená. K tomu všemu autoři těchto studií prováděli studie jen u velmi malého vzorku očkovaných a nehodnotili prevakcinační hladiny protilátek významné při ochraně vůči chřipce.

d) účinnost očkování v závislosti na předchozí zkušenosti s chřipkou

Studie ukázaly, že vyšší protektivní účinnost očkování proti chřipce bývá dosažena u těch osob, které v minulosti byly očkovány proti chřipce nebo chřipku prožily. Z tohoto důvodu se dětem mladším 3 let podávají dvě poloviční vakcinační dávky v intervalu 1 měsíce. Stejně tak dětem ve věku 3–9 let se doporučuje podávat 2 celé vakcinační dávky v intervalu 1 měsíce v případě, že v minulosti nebyly očkovány nebo chřipkou neonemocněly. Druhá dávka (ať již v podobě poloviční nebo celé) je považována za booster, který nejen rozšiřuje skupinu s dostatečně kvalitní imunitní odpovědí, ale rovněž zesiluje již získanou protekci. V některých státech toto pravidlo dokonce platí i pro dospělé osoby při použití jakékoli komerční chřipkové vakcíny. Naopak u osob starších 3 let, které byly v minulosti očkovány proti chřipce anebo chřipku prožily (zpravidla se uvažuje předešlá chřipková sezóna), podání druhé dávky chřipkové vakcíny (tj. booster dávka) nevede k zesílení imunitní odpovědi dosažené po podání první dávky.

RNDr. Marek Petráš

Za návsi 2450/11, 106 00 Praha 10

e-mail: petras@vakciny.cz

Literatura

- Al-Khayatt R, Jennings R, Potter CW. Interpretation of responses and protective levels of antibody against attenuated influenza A viruses using single radial haemolysis. *J. Hyg. Camb.*, 92, 301, 1984.
- Bellelli E, Bracchi V, Tanzi Mx. Applicazione alle ricerche epidemiologiche sull'influenza della reazione di immunoemolisi radiale. *Ig. Mod.*, 72, 343, 1979.
- Belshe RB, Gruber WC, Mendelman PM et al. Correlates of immune protection induced by live, attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenza virus vaccine. *J Infect Dis* 2000; 181: 1133–1137.
- Blumberg EA, Albano C, Pruett T et al. Immunogenicity of influenza virus vaccine in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 295–302.
- Boyce TG, Gruber WC, Coleman-Dockery SD et al. Mucosal immune response to trivalent live attenuated intranasal influenza vaccine in children. *Vaccine* 2000; 18: 82–88.
- Bridges CB, Thompson WW, Meltzer MI et al. Effectiveness and cost-benefit of influenza vaccination of healthy working adults: a randomized controlled trial. *JAMA* 2000; 284: 1655–1663.
- Campbell DS, Rumley MH. Cost-effectiveness of the influenza vaccine in a healthy, working-age population. *J Occup Environ Med* 1997; 39: 408–414.
- Carman WF, Elder AG, Wallace LA et al. Effects of influenza vaccination of health-care workers on mortality of elderly people in long-term care: a randomised controlled trial. *Lancet* 2000; 355: 93–97.
- Clements DA, Langdon L, Bland C, Walter E. Influenza A vaccine decreases the incidence of otitis media in 6- to 30-month-old children in day care. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1995; 149: 1113–1117.
- Clover RD, Crawford S, Glezen WP, Taber LH, Matson CC, Couch RB. Comparison of heterotypic protection against influenza A/Taiwan/86 (H1N1) by attenuated and inactivated vaccines to A/Chile/83-like viruses. *J Infect Dis* 1991; 163: 300–304.
- Crawford CR, Faiza Mukhlis FA, Jennings R et al. Use of zwitterionic detergent for the preparation of an influenza virus vaccine. 1. Preparation and characterization of disrupted virions. *Vaccine* 1984; 2: 193–198.
- Dorrell L, Hassan I, Marshall S, Chakraverty P, Ong E. Clinical and serological responses to an inactivated influenza vaccine in adults with HIV infection, diabetes, obstructive airways disease, elderly adults and healthy volunteers. *Int J STD AIDS* 1997; 8: 776–779.
- Frey S, Poland G, Percell S, Podda A. Comparison of the safety, tolerability, and immunogenicity of a MF59-adjuvanted influenza vaccine and a non-adjuvanted influenza vaccine in non-elderly adults. *Vaccine* 2003 Oct 1; 21(27–30): 4234–4237.
- Govaert TM, Thijs CT, Masurel N, Sprenger MJ, Dinant GJ, Knottnerus JA. Efficacy of influenza vaccination in elderly individuals: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *JAMA* 1994; 272: 1661–1665.
- Groothuis JR, Lehr MV, Levin MJ. Safety and immunogenicity of a purified haemagglutinin antigen in very young high-risk children. *Vaccine* 1994; 12: 139–141.
- Gross PA, Hermogenes AW, Sacks HS, Lau J, Levandowski RA. Efficacy of influenza vaccine in elderly persons: a meta-analysis and review of the literature. *Ann Intern Med* 1995; 123: 518–527.
- Hak E, Nordin J, Wei F et al. Influence of high-risk medical conditions on the effectiveness of influenza vaccination among elderly members of 3 large managed-care organizations. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 370–377.
- Heikkinen T, Ruuskanen O, Waris M, Ziegler T, Arola M, Halonen P. Influenza vaccination in the prevention of acute otitis media in children. *Am J Dis Child* 1991; 145: 445–448.
- Hirota Y, Kaji M, Ide S et al. Antibody efficacy as a keen index to evaluate influenza vaccine effectiveness. *Vaccine* 1997; 15: 962–967.

20. Jennings R, Smith TL, Spencer RC et al. Inactivated influenza virus vaccines in man: A comparative study of subunit and split vaccines using two methods for assessment of antibody responses. *Vaccine* 1984; 2: 75–80.
21. King JC, Lagos R, Bernstein DI et al. Safety and immunogenicity of low and high doses of trivalent live cold-adapted influenza vaccine administered intranasally as drops or spray to healthy children. *J Infect Dis* 1998; 177: 1394–1397.
22. La Montagne JR, Noble GR, Quinnan GV et al. Summary of clinical trials of inactivated influenza vaccine—1978. *Rev Infect Dis* 1983; 5: 723–736.
23. McElhaney JE, Beattie BL, Devine R, Grynch R, Toth EL, Bleackley RC. Age-related decline in interleukin 2 production in response to influenza vaccine. *J Am Geriatr Soc* 1990; 38: 652–658.
24. Monto AS, Ohmit SE. Effectiveness evaluation of inactivated influenza vaccines: Methods and results. In Brown LE, Hampson AW, Webster RG (eds). *Options for the Control of Influenza III*. Amsterdam, Elsevier Science BV, 1996; pp 93–96.
25. Mullooly JP, Bennett MD, Hornbrook MC et al. Influenza vaccination programs for elderly persons: cost-effectiveness in a health maintenance organization. *Ann Intern Med* 1994; 121: 947–952.
26. Neuzil KM, Dupont WD, Wright PF, Edwards KM. Efficacy of inactivated and cold-adapted vaccines against influenza A infection, 1985 to 1990: the pediatric experience. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 733–740.
27. Neuzil KM, Reed GW, Mitchel EF et al. Impact of influenza on acute cardiopulmonary hospitalizations in pregnant women. *Am J Epidemiol* 1998; 148: 1094–1102.
28. Nichol KL, Lind A, Margolis KL et al. Effectiveness of vaccination against influenza in healthy, working adults. *N Engl J Med* 1995; 333: 889–893.
29. Nichol KL, Wuorenma J, von Sternberg T. Benefits of influenza vaccination for low-, intermediate-, and high-risk senior citizens. *Arch Intern Med* 1998; 158: 1769–1776.
30. Nordin J, Mullooly J, Poblete S et al. Influenza vaccine effectiveness in preventing hospitalizations and deaths in persons 65 years or older in Minnesota, New York, and Oregon: data from 3 health plans. *J Infect Dis* 2001; 184: 665–670.
31. Oxford JS, Schild GC, Potter CW, Jennings R. Specificity of the antihaemagglutinin antibody response induced in man by inactivated influenza vaccines and by natural infection. *J Hyg (Lond)* 1979; 82: 51–61.
32. Oxford Js, Yettes R, Schild GC. «Quantitation and analysis of the specificity of post-immunization antibodies to influenza B viruses using single radial haemolysis». *J. Hyg. Camb.*, 1982; 88, 325.
33. Park CL, Frank AL, Sullivan M, Jindal P, Baxter BD. Influenza vaccination of children during acute asthma exacerbation and concurrent prednisone therapy. *Pediatrics* 1996; 98: 196–200.
34. Patriarca PA, Weber JA, Parker RA et al. Risk factors for outbreaks of influenza in nursing homes: a case-control study. *Am J Epidemiol* 1986; 124: 114–119.
35. Potter CW, Oxford JS. Determinants of immunity to influenza infection in man. *Br Med Bull* 1979; 35: 69–75.
36. Potter J, Stott DJ, Roberts MA et al. Influenza vaccination of health care workers in long-term-care hospitals reduces the mortality of elderly patients. *J Infect Dis* 1997; 175: 1–6.
37. Russel SM, Mc Cahon D, Beare AS. «A single radial haemolysis technique for the measurement of influenza antibody». *J. Gen. Virol.*, 27, 1, 1975.
38. Sugaya N, Nerome K, Ishida M, Matsumoto M, Mitamura K, Nirasawa M. Efficacy of inactivated vaccine in preventing antigenically drifted influenza type A and well-matched type B. *JAMA* 1994; 272: 1122–1126.
39. Webster RG, Kasel JA, Couch RB, Laver WG. Influenza virus subunit vaccines. II. Immunogenicity and original sin in humans. *J Infect Dis* 1976; 134: 48–58.
40. Weekly epidemiological record, 12 JULY 2002, 77th YEAR, No. 28, 2002; 77, 229–240.
41. Wilde JA, McMillan JA, Serwint J, Butta J, O'Riordan MA, Steinhoff MC. Effectiveness of influenza vaccine in health care professionals: a randomized trial. *JAMA* 1999; 281: 908–913.
42. Zangwill KM, Droge J, Mendelman P et al. Prospective, randomized, placebo-controlled evaluation of the safety and immunogenicity of three lots of intranasal trivalent influenza vaccine among young children. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 740–746.