

616.921.5-085.371-092.22

VYHODNOTENIE ANTIGÉNNEHO ÚČINKU JEDNORAZOVEJ A OPAKOVANEJ INTRADERMÁLNEJ APLIKÁCIE OČKOVACEJ LÁTKY PROTI CHRÍPKE

Podplukovník MUDr. Š. SIVÁK, podplukovník MUDr. J. JAKUBKA,
kapitán MUDr. J. LIETAVA

Jednoznačné vyhodnotenie ochranného účinku očkovania proti chrípke je znemožňované komplikovanosťou problematiky. Definitívnu odpoveď nedali ani výsledky epidemiologických štúdií, uverejnených v nami sledovanej literatúre. Tieto výsledky (1, 2, 3, 4) podčiarkujú iba perspektívnosť vakcinácie. Pri vzájomnom porovnaní záverov epidemiologických štúdií sú hlavné ťažkosti vo voľbe kritérií pre hodnotenie infekcie vírusom chrípky na veľkom počte sledovaných osôb.

Odhliadnuc od celého rozsahu problematiky očkovania proti chrípke, diskutuje sa však ešte i o otázkach spôsobu aplikácie očkovacej látky, o veľkosti dávky, o nutnosti opakovaného preočkovania, o vplyve preimunizačných titrov na titry výsledné. Na tieto otázky pokúsili sme sa odpovedať pri intradermálnom očkovaní proti chrípke.

Materiál a metódy

V januári 1965 sme zaočkovali vo vojenskom školskom kolektíve 250 mužov 19ročných a 20ročných. Očkovali sme vakcínou proti vírusom chrípky typu A₂ a B₁ (Adinvirae), adsorbovanou na kalcium — fosfát, ktorú vyrobil a dodal ÚSOL Praha, pobočka Šarišské Michaľany. Vakcína mala výrobnú šaržu 04/20864. Aplikovali sme ju intradermálne tuberkulínovými striekačkami značky Omega, ihlami značky Eco. Pred očkovaním sme kožu očistili v mieste vpichu benzín-alkoholom. Očkovali sestry, ktoré mali skúsenosti v intradermálnej aplikácii tuberkulínu podľa požiadaviek SZO.

Vakcínu sme u 122 vojakov aplikovali v dávke 0,4 ml v oblasti m. deltoideus do oboch ramien súčasne (jednorazovo očkovaní). U 128 vo-

jakov sme očkovali dávkou 0,2 ml do ľavého ramena a túto dávku sme opakovali po 4 týždňoch od prvej aplikácie (vo februári 1965) do pravého ramena (opakovane očkovaní).

Protilátkovú odozvu sme sledovali vyšetrením:

- a) sér prevakcinačných, odobraných v januári,
- b) sér odobraných za 4 týždne po prvej aplikácii očkovacej dávky (vo februári),
- c) sér odobraných za ďalšie 4 týždne (v marci).

Séra boli po odbere uložené pri -20°C a vyšetrené súčasne po treťom odbere. Zo súboru jednorazovo očkovaných vyšetřili sme 103 trojíc sér (84,4 %), zo súboru opakovane očkovaných 99 trojíc sér (77,3 %).

Séra boli spracované v hemaglutinačne-inhibičnom (HI) teste bežnou metodikou na plexitových platniach za použitia 4 jednotiek neinaktivovaného vírusu a kohútich krviniek. Použili sme antigény A₂/Singapore z 54. vaječnej pasáže a B₁/61 zo 46. vaječnej pasáže. Séra boli inaktivované pri $56^{\circ}\text{C}/30'$ a prebubláné CO₂.

Na začiatku novembra 1965 sme odobrali u časti opakovane očkovaných ďalšiu vzorku krvi. Tieto vzorky sme spracovali a porovnávali so vzorkami z marca. Celkove sme spracovali 52 dvojíc sér (52,5 % z vyšetřených trojíc len od opakovane očkovaných). U protilátok proti typu B₁/61 sme z hodnotenia vylúčili 2 séra, u ktorých bol zistený oproti marcu významný vzostup titrov. Jeden z nich sa hlásil na ošetrovni v októbri s ochorením diagnostikovaným ako chrípka.

V sledovanom kolektíve vznikla v novembri 1965 epidémia chrípky typu B₁. V pozorovaní nám zostalo 129 očkovaných a ako kontrolný kolektív 390 neočkovaných. V epidémii sme sledovali chorobnosť podľa hlásenia sa s príznakmi ochorenia horných ciest dýchacích. Materiály na

Rozloženie titrov hemaglutinačne inhibičných protilátok proti chrípke typu A₂/Sing

Tab. 1

Titry u očkovaných jednorazovo

titer	I. vz.	II. vz.	III. vzor
>1 : 32	71	3	4
1 : 32	22	3	9
1 : 64	7	13	16
1 : 128	3	36	36
1 : 256		29	23
1 : 512		12	11
1 : 1024		4	3
1 : 2048		3	1
spolu	103	103	103
ST	1,4	3,58	3,24
% titrov ≥ 1 : 128	3,0	81,6	71,9
% titrov bez zmien		6,5	8,2
% titrov so zvýšením 4násob. a vyšším		81,5	78,2

Tab. 2

Titry u opakovane očkovaných

titer	I. vz.	II. vz.	III. vz.	IV. vz.
>1 : 32	85	19	16	18
1 : 32	9	26	27	14
1 : 64	3	39	38	14
1 : 128	2	10	12	3
1 : 256		4	3	3
1 : 512			2	
1 : 1024		1	1	
1 : 2048				
spolu	99	99	9	52
ST	1,5	1,95	2,01	1,85
% titrov ≥ 1 : 128	2,1	15,2	18,2	11,6
% titrov bez zmien		25,4	18,9	—
% titrov so zvýšením 4násob. a vyšším		46,3	49,3	—
% titrov bez zmien v porovnaní s III. vzorkou				25
% titrov s poklesom 4násobným a väčším v porovnaní s III. vzorkou				13,4

virologické vyšetrenie sme odoberali nárazovo len od chorých.

Pri štatistickom vyhodnotení sme použili výpočet stupňa titrácie (ST), výpočet proporcie titrov v $\geq 1 : 128$ a výpočet proporcie titrov so zvý-

šením štvornásobným a vyšším (najmenej štvornásobným).

K otestovaniu výpočtov sme použili klasický t-test a χ^2 -test. Homogenitu súborov sme overili Kolmogorovovým—Smirnovovým testom.

Rozloženie titrov hemaglutinačne inhibičných protilátok proti chrípke typu B₁/61

Tab. 3

Titry u očkovaných jednorazovo

titer	I. vz.	II. vz.	III. vz.
>1 : 32	23	1	1
1 : 32	30	3	1
1 : 64	31	4	8
1 : 128	15	27	27
1 : 256	2	34	28
1 : 512		18	19
1 : 1024		8	13
1 : 2048		7	5
spolu	102	102	102
ST	1,86	4,1	4,13
% titrov ≥ 1 : 128	17,6	92,2	90,2
% titrov bez zmien		2,8	5,4
% titrov so zvýšením 4násobným a vyšším		76,6	79,0

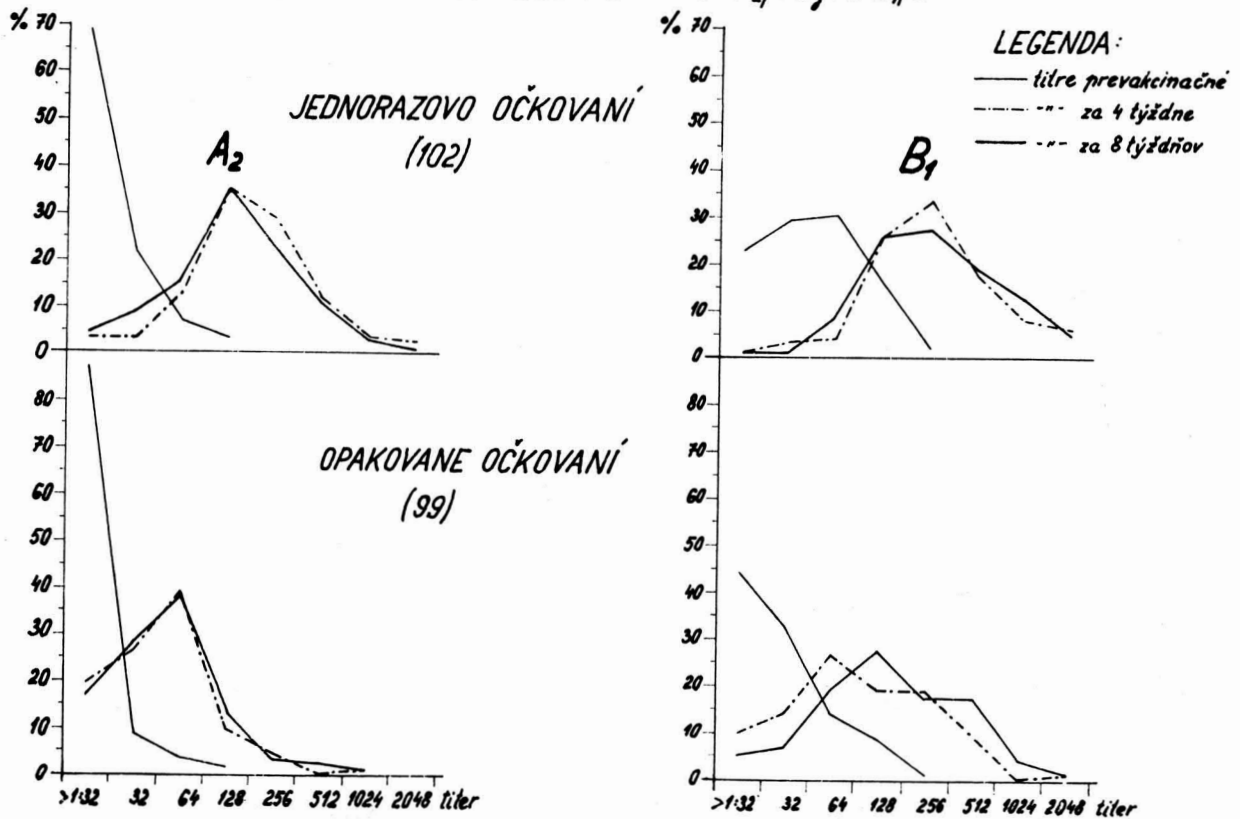
Tab. 4

Titry u opakovane očkovaných

titer	I. vz.	II. vz.	III. vz.	IV. vz.
>1 : 32	44	10	5	3
1 : 32	32	14	7	13
1 : 64	14	26	19	19
1 : 128	8	19	27	9
1 : 256	1	19	18	3
1 : 212		10	18	2
1 : 1024			4	
1 : 2048		1	1	
spolu	99	99	99	49
ST	1,6	2,87	3,4	2,17
% titrov ≥ 1 : 128	9,1	49,5	68,7	28,6
% titrov bez zmien		19,9	9,9	—
4násobným a vyšším % titrov so zvýšením		45,7	66,7	—
% titrov bez zmien v porovnaní s III. vzorkou				28,5
% titrov s poklesom 4násobným a väčším v porovnaní s III. vzorkou				20,4

ZMENY V ROZLOŽENÍ HEMAGLUTINAČNE INHIBIČNÝCH
PROTILÁTKOVI CHRÍPKY TYPU: A₂/Sing. a B₁/61

Graf č. 1



Výsledky

V prevakcinačných sérach sme zistili HI protilátky v titroch $\geq 1:32$ proti typu A₂ u 22,8 % vyšetrených, proti B₁ u 68,8 % vyšetrených (tab. 1—4).

Výberové súbory [jednorazovo očkovanie a opakovane očkovanie] mali v prevakcinačných sérach homogénne rozloženie HI protilátok proti viru chrípky typu A₂ (Kolmogorov — Smirnovov test: $\lambda = 1,2$). Homogenita rozloženia HI protilátok proti typu B₁ bola u výberových súborov porušená u titrov 1:32 (Kolmogorov—Smirnovov test: $\lambda = 1,75$, $0,01 > P > 0,001$). Nezistili sa však štatisticky významné rozdiely v hodnotách stupňa titrácie a v proporciách titrov $\geq 1:128$ ani u protilátok proti typu A₂, ani proti typu B₁.

Za 4 týždne po očkovaní zistili sme v oboch súboroch štatisticky významné zvýšenie titrov protilátok proti typu A₂ i B₁ (tab. 1—4). Zvýšenie ST a proporcie osôb s titrami $\geq 1:128$ bolo u protilátok proti B₁/61 v oboch súboroch, i u protilátok proti A₂/Sing v súbore jednorazovo očkovaných vysoko významné ($P < 0,001$). Významné zvýšenie bolo potvrdené aj u protilátok proti A₂ v súbore opakovane očkovaných, avšak u ST s nižšou pravdepodobnosťou ($0,05 > P > 0,01$).

Za 8 týždňov po očkovaní u jednorazovo očkovaných v porovnaní s vyšetrením za 4 týždne zistili sme už mierny pokles titrov protilátok

proti typu A₂ i B₁, ktorý však nebol štatisticky významný (tab. 1 a 3).

U opakovane očkovaných bola na druhý podnet odlišná protilátková odpoveď proti typu A₂/Sing ako proti typu B₁/61. Zatiaľ čo u protilátok proti A₂ nedošlo k zvýšeniu titrov, u protilátok proti B₁ mal druhý antigénny podnet významný vplyv na zvýšenie protilátok ($0,05 > P > 0,01$).

Zmeny v rozložení titrov, ku ktorým došlo počas sledovaného obdobia, prezentujeme i v grafoch 1 a 2.

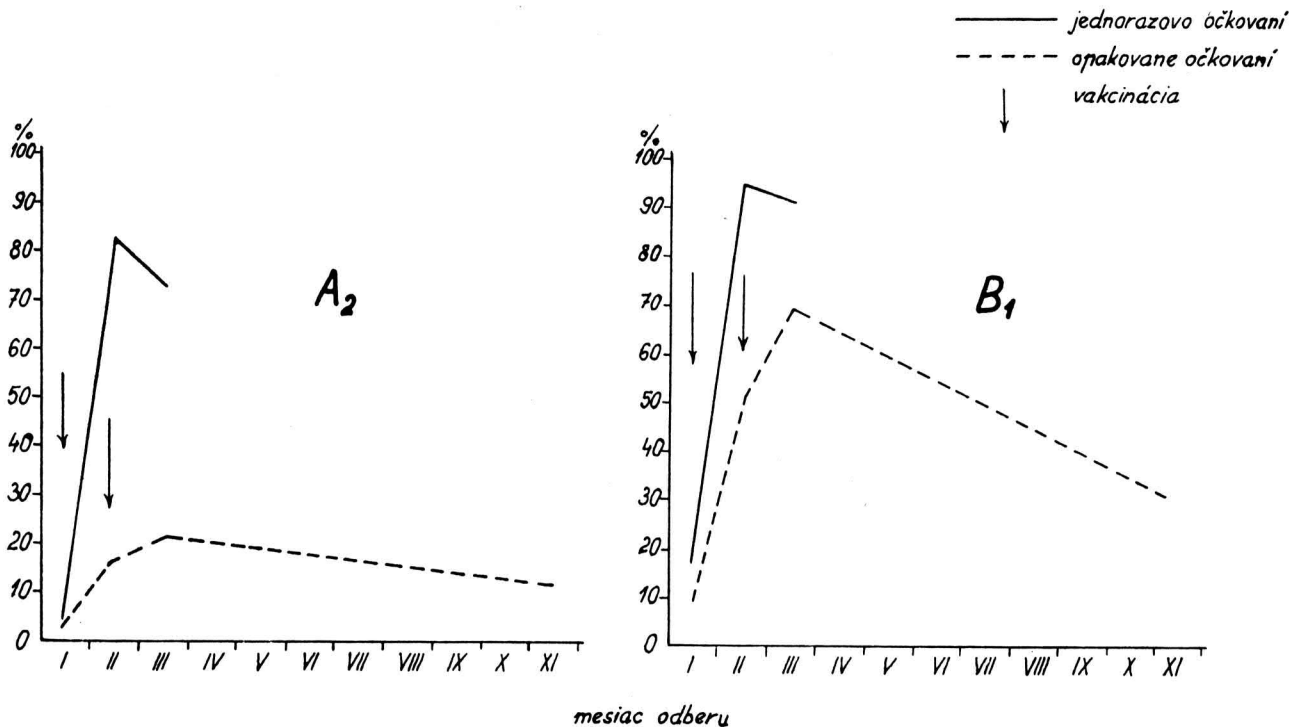
Výsledné titry za 8 týždňov po očkovaní potvrdzujú väčšiu vhodnosť jednorazovej aplikácie očkovacej látky. Hladina protilátok (ST) i proporcia titrov protilátok $\geq 1:128$ proti A₂ i B₁ bola za 8 týždňov od začiatku očkovania v súbore očkovaných jednorazovo vysoko významne vyššia ako v súbore očkovaných opakovane ($P < 0,001$).

Na otázku o vplyve preimunizačných titrov na titry poimunizačné pokúsili sme sa odpovedať porovnaním proporcie vzostupov štvornásobných a vyšších [najmenej štvornásobných] u protilátok proti A₂/Sing s proporciou vzostupov najmenej štvornásobných u protilátok proti B₁/61. Porovnávali sme proporciu významných vzostupov v súboroch jednorazovo očkovaných a opakovane očkovaných.

V prevakcinačných sérach bola hladina protilátok proti typu B₁ významne vyššia ako proti

PROPORCIA TITROV $\geq 1:128$

Graf č.2



typu A₂/Sing (podľa ST i podľa proporcie titrov $\geq 1:128$). Po podaní prvej dávky očkovacej látky percento vzostupov najmenej štvornásobných u protilátok proti A₂/Sing a B₁/61 sa navzájom nelíšilo. Druhá dávka očkovacej látky bola aplikovaná tiež na štatisticky odlišných úrovniach hladín protilátok. Aj keď protilátky proti typu B₁/61 boli pred podaním druhej dávky vyššie, proporcia vzostupov najmenej štvornásobných bola u týchto protilátok významne vyššia ako proporcia vzostupov najmenej štvornásobných u protilátok proti A₂/Sing.

Od marca do novembra — vyšetrení boli len opakovane očkovani — došlo k poklesu protilátok proti A₂ i B₁. Významne sa znížila proporcia osôb s titrami $\geq 1:128$ u protilátok proti A₂ ($\chi^2 = 6,46$, $0,05 > P > 0,01$) i u protilátok proti B₁ ($\chi^2 = 9,55$, $0,01 > P > 0,001$) — graf 1 a 2. Podľa ST bol pokles protilátok proti A₂ nevýznamný, kým pokles protilátok proti B₁ vysoko významný (t-test = 5,8, $P < 0,001$).

Porovnaním proporcie vzostupov najmenej štvornásobných u titrov $\geq 1:128$ s proporciou významných vzostupov u titrov $< 1:128$ sme zistili, že táto proporcia je významne vyššia u titrov $< 1:128$. Takto porovnávať sme mohli len protilátky proti typu B₁, pretože u protilátok proti A₂ bol v preimunizačných sérach nedostačujúci počet titrov $\geq 1:128$.

V epidémii chrípky v novembri 1965 bolo vyšetrených 21 dvojíc sér a založených 16 izolačných pokusov od chorých. Významný vzostup titrov HI protilátok bol zistený u 13 (61,9 %) vy-

šetrených, z toho u troch očkovaných. Kmene chrípky typu B₁ sme izolovali u 4 chorých (25 %), z toho jedna izolácia bola od očkovaného.

Výsledky sérologických vyšetrení ukazujú, že klinické sledovanie ochorení na chrípku nezachytalo sporadické prípady pred začiatkom epidemického výskytu a že počas sledovania diagnostikovali ako chrípku i ochorenia inej etiológie (39,1 % ochorení diagnostikovaných ako chrípka bez významného vzostupu titrov protilátok). Preto je veľmi diskutabilný výsledok porovnania nemocnosti u očkovaných a neočkovaných 8 mesiacov po očkovaní. Bol síce zistený významný rozdiel v počte hlásiacich sa s príznakmi ochorenia horných ciest dýchacích ($\chi^2 = 8,83$, $0,01 < P < 0,001$), avšak v počte hospitalizovaných s týmito príznakmi a v počte osôb s teplotami $> 37,5^\circ\text{C}$ neboli medzi očkovanými a neočkovanými zistené významné rozdiely.

Diskusia

Najčastejšie používané kritériá pre sérologické hodnotenie efektu vakcinácie sú vzostupy titrov štvornásobné a vyššie (3, 5, 6), geometrický priemer (4, 7), stupeň titrácie (5). Hobson et. al. (7) upozornili na bimodálne rozdelenie hladín protilátok po vakcinácii na titry do $1:64$ a titry $\geq 1:128$. Okrem stupňa titrácie sme použili pre hodnotenie výsledkov i proporciu titrov $\geq 1:128$, pretože obidva tieto ukazovatele je možné ľahko štatisticky otestovať. Proporcia titrov $\geq 1:128$,

i keď je ukazovateľom hrubším ako ostatné kritériá, je z epidemiologického hľadiska vhodným kritériom (8).

Bez ohľadu na druh očkovacej látky alebo veľkosť použitej dávky, má prvá očkovacia dávka dobrú protilátkovú odozvu (1, 5, 6, 7). Také isté výsledky sme dosiahli aj my. Podľa našich výsledkov sa ďalej zdá, že antigénna odpoveď je menej závislá na prevakcinačných titroch, ako na veľkosti použitej dávky. Je možné, že náš predpoklad je ovplyvnený tým, že titráciu sme začali až riedením 1 : 32, a preto nemáme prehľad o rozložení protilátok o nižších titroch. Podľa našich výsledkov sa zdá, že v našich kolektívoch mal prvý antigénny podnet za následok anamnestickú reakciu, prejavujúcu sa „booster efektom“.

Kým sovietski autori (2) ukazujú na priamu závislosť ukazovateľov epidemiologickej účinnosti vakcín od počtu aplikácií, práce s inaktivovanými vakcínami (5, 7) tvrdia, že druhý antigénny podnet nezvyšuje hladinu protilátok. Naše výsledky u protilátok proti typu A₂ sa zhodujú s výsledkami u inaktivovaných vakcín. Pri vysvetlení významného vzostupu titrov u protilátok proti typu B₁/61 je možné vychádzať z predpokladov, že existuje individuálna maximálna hranica titrov protilátok, alebo že u očkovaných s určitou hladinou protilátok dochádza k znižovaniu imunizačného efektu prítomnosťou cirkulujúcich protilátok (7). Za týchto predpokladov sa pri vyššej hladine protilátok mohol uplatniť imunizačný efekt očkovacej látky len pri väčšej dávke, alebo pri použití kmeňa s vyššou antigenicitou. Predpokladáme, že v nami použitej očkovacej látke mal kmeň B₁/61 vyššiu antigenicitu ako kmeň A₂/Sing.

Závery

1. Jednorazová aplikácia dvojnásobnej dávky očkovacej látky (0,4 ml) má pri intradermálnej

aplikácii očkovacej látky lepši imunizačný efekt ako opakovaná aplikácia polovičných dávok (0,2 ml).

2. U nízkych preimunizačných hladín protilátok má prvý antigénny podnet veľmi dobrú protilátkovú odozvu, závislú na veľkosti použitej dávky.

3. Pri vyšších hladinách protilátok sa môže očkovanie uplatniť na významnom ich zvýšení len pri použití väčšej dávky, alebo pri použití kmeňov s vyššou antigenicitou.

4. Vhodným epidemiologickým kritériom pre hodnotenie protilátok je proporcia titrov $\geq 1 : 128$.

Súhrn

Intradermálne sme zaočkovali kombinovanou očkovacou látkou proti vírusom chrípky typu A₂ a B₁, umrtnenou formalínom a adsorbovanou na kalcium — fosfát 250 mužov. Sledovaním protilátkovej odozvy v hemaglutinačne-inhibičnom teste s antigénmi A₂/Singapore a B₁/61 sme zistili, že dva antigénne podnety po 0,2 ml mali významne nižší imunizačný efekt ako jednorazový podnet 0,4 ml. Prvý antigénny podnet mal veľmi dobrú protilátkovú odozvu, prejavujúcu sa „booster efektom“. Druhá dávka očkovacej látky nemala významný vplyv na zvýšenie protilátok proti typu A₂, významne však zvýšila protilátky proti typu B₁.

Literatúra

1. Unanov, S. S., Mstibovskij, S. A., Buzunova, L. V., Tručevič, A. J.: Vop. Virusol. 8, 1963, 3: 358—359.
2. Smorodincev, A. A., Burov, S. A., Dokučev, G. M., Minčev, P. N., Filipov, N. A., Čalkin, O. M.: Vop. Virusol. 8, 1963, 3: 286—290.
3. Ivanov, N., Mancev, D., Nikolova, Z., Kebedžiev, G., Odiseev, Ch.: Vop. Virusol. 8, 1963, 3: 291—294.
4. Bakacz et al.: Acta microbiol. Hung. 9, 1962/63: 381—390.
5. Adam, E., Burian, V., Kubátová, E., Dolejší, H., Dvořák, K., Škrvnová, K., Zigmund, V.: Čas. Lék. Čes. 54, 1965, 23: 614—261.
6. Ritova, V. V., Žakovskij, A. M.: Vop. Virusol. 8, 1963, 5: 805—808.
7. Hobson, D., Lane, Ch. A., Beare, A. S., Chivers, C. P.: British Med. J., 5404, 1964, 2: 271—274.
8. Fedová, D., Drašnar, M., Švejška, Pirková, Z., Sojda, J., Syrčák, L.: Z. Mikrobiol. (Praha) 9, 1965: 77—90.

Čs. společnost tělovýchovného lékařství — sekce Čs. lékařské společnosti J. E. Purkyně ve spolupráci se sekci gynekologickou a zdravotnickou sekcí ÚV ČSTV uspořádá ve dnech 14. a 15. září 1967 v Olomouci celostátní vědeckou konferenci na téma

VRCHOLNÝ SPORT ŽEN

Program: 1. Vliv intenzivního tréninku na somatický rozvoj a základní funkce. — 2. Závislost zdatnosti a výkonnosti na věku. — 3. Včasná specializace v jednotlivých sportovních odvětvích. — 4. Menstruační cyklus a tělesná výchova. — 5. Gravidita a výkonnost, výkonnost po graviditě. — 6. Metody a prostředky zvyšování funkční zdatnosti a výkonnosti žen. — 7. Psychologie ženy ve vztahu k tréninku a vrcholným výkonům.

Doba sdělení 10 minut. Přihlášky s dvacetifádkovým souhrnem je nutno zaslat do 10. června 1967. Veškerou korespondenci adresujte do rukou předsedy přípravného výboru: MUDr. Zdeněk Jírka, CSc., I. P. Pavlova 6, Olomouc, Československo.