

615.372[616.921.5]—078.7

VYHODNOCENÍ ANTIGENNÍHO ÚČINKU OČKOVACÍ LÁTKY PROTI CHŘIPCE

Plk. MUDr. J. JAKUBKA, pplk. MUDr. Š. SIVÁK, mjr. MUDr. J. LIETAVA,
mjr. MUDr. K. VINDIŠ

2. okruhový hygienicko-epidemiologický oddíl

Hodnocení účinnosti očkovací látky proti chřipce je možno spolehlivě provádět pouze epidemiologickým pokusem v průběhu chřipkové epidemie. Jinak je možno se pokusit v meziepidemickém období o sledování protilátkové odpovědi proti kmenům obsaženým ve vakcíně. Tyto práce nejsou nikterak nové a byly nejintenzivněji prováděny v minulém desetiletí a na začátku tohoto desetiletí. Přitom se používalo převážně formolizovaných vakcín ve vodní suspenzi nebo v olejové emulzi v aplikaci intradermální, subkutánní nebo intramuskulární (1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13). Své první zkušenosti v hodnocení antigenního účinku protichřipkové vakcíny jsme uveřejnili v našem prvním sdělení ve Voj. zdrav. listech 36, 1967, 2:75-79.

V této práci jsme použili námi již dříve vyzkoušené očkovací schéma, a kromě toho jsme zařadili i některé jiné způsoby aplikace protichřipkové očkovací látky, které vzájemně porovnáváme na základě protilátkové odezvy.

Materiál a metody

V říjnu 1966 jsme očkovali protichřipkovou očkovací látkou č. šarže 09/1 — 1165 s deklarovaným obsahem 2000 j. A-2/57, 2000 j. A-2/64, 4000 j. B. Kromě intradermální aplikace jsme podávali očkovací látku i podkožně. Placebo jsme nepoužili. Dávkování očkovací látky a počty vyšetřovaných jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1

Přehled způsobů aplikace a dávkování očkovací látky

Počet vyšetřených	I. dávka	II. dávka za 4 týdny	Číslo grafu
65	0,2 ml i. d.	0,2 ml i. d.	1
37	0,2 ml i. d.	0,2+0,2 ml i. d.	
88	0,2+0,2 ml i. d.	—	
47	0,4 ml s. c.	0,4 ml s. c.	2
46	0,8 ml s. c.	—	
39	0,1+0,1+0,1 ml i. d.	—	3

Intradermálně jsme do jednoho ramene podali maximálně 0,2 ml vakcíny, při aplikaci vět-

ší dávky jsme zbytek podali do druhého ramene. Při dávce 0,1+0,1+0,1 ml jsme za třetí místo vpichu volili kůži přední strany stehna. Podkožně jsme rovněž očkovali do oblasti m. deltoideus. Termíny odběru sér, jejich uložení a zpracování byly obdobné, jako ve výše uvedené práci. Kmen A-2/64, který byl obsažen v očkovací látce, jsme neměli k dispozici pro sérologické vyšetření.

Statistické hodnocení bylo obdobné jako v roce 1965.

Výsledky

Tabulka 2

Hemaglutinačně-inhibiční protilátky před očkovaním a za 4 týdny po očkovaní (podle proporce titrů $\geq 1:128$)

Dávka	Počet vyšetřených	A-2/Sing			B-1		
		před %	po %	dif %	před %	po %	dif %
0,2 ml i. d.	102	5,8 ⁺	70,4 ⁺⁺	65,4	27,1	60,0	32,9
0,2+0,2 ml i. d.	88	0,0	62,5 ⁺⁺	62,5	27,2	67,0	39,8
0,4 ml s. c.	47	2,1	48,7	46,6	46,8 ⁺⁺	55,3	8,7 ⁼
0,8 ml s. c.	46	2,1	43,4	41,3	39,1	63,0	23,9

Tabulka 3

Hemaglutinačně-inhibiční protilátky před očkovaním a za 4 týdny po očkovaní (podle středního titru — ST)

Dávka	Počet vyšetřených	A-2/Sing			B-1		
		před	po	dif	před	po	dif
0,2 ml i. d.	102	1,49 ⁺	3,09 ⁺⁺	1,60	2,11	2,87	0,76
0,2+0,2 ml i. d.	88	1,04	3,09 ⁺⁺	2,05	2,25	3,28 ⁺⁺	1,03
0,4 ml s. c.	47	1,35	2,62	1,27	2,45	2,74	0,29 ⁼
0,8 ml s. c.	46	1,27	2,50	1,23	2,32	2,97	0,65

Vysvětlivky:

= nevýznamný vzestup po očkovaní

⁺ významné rozdíly mezi základními nebo výslednými titry ve skupině očkovaných intradermálně

⁺⁺ významné rozdíly v základních nebo výsledných titrech mezi skupinami očkovaných intradermálně a podkožně

První antigenní podnět, bez ohledu na dávku a způsob aplikace, měl statisticky významný vliv

na vytváření protilátek proti kmenu A-2/Sing a kmenu B-1. Jedinou výjimkou byly protilátky proti kmenu B-1 po subkutánní (s. c.) dávce 0,4 ml, kde jsme nezaznamenali statisticky významný vzestup titrů protilátek. Tento závěr je potvrzen statistickou významností (nevýznamností) jak vzestupu proporce titrů $\geq 1:128$, tak i vzestupem středního titru (ST).

Při vzájemném porovnávání různých způsobů aplikace očkovací látky jsme však obdrželi rozdílné výsledky.

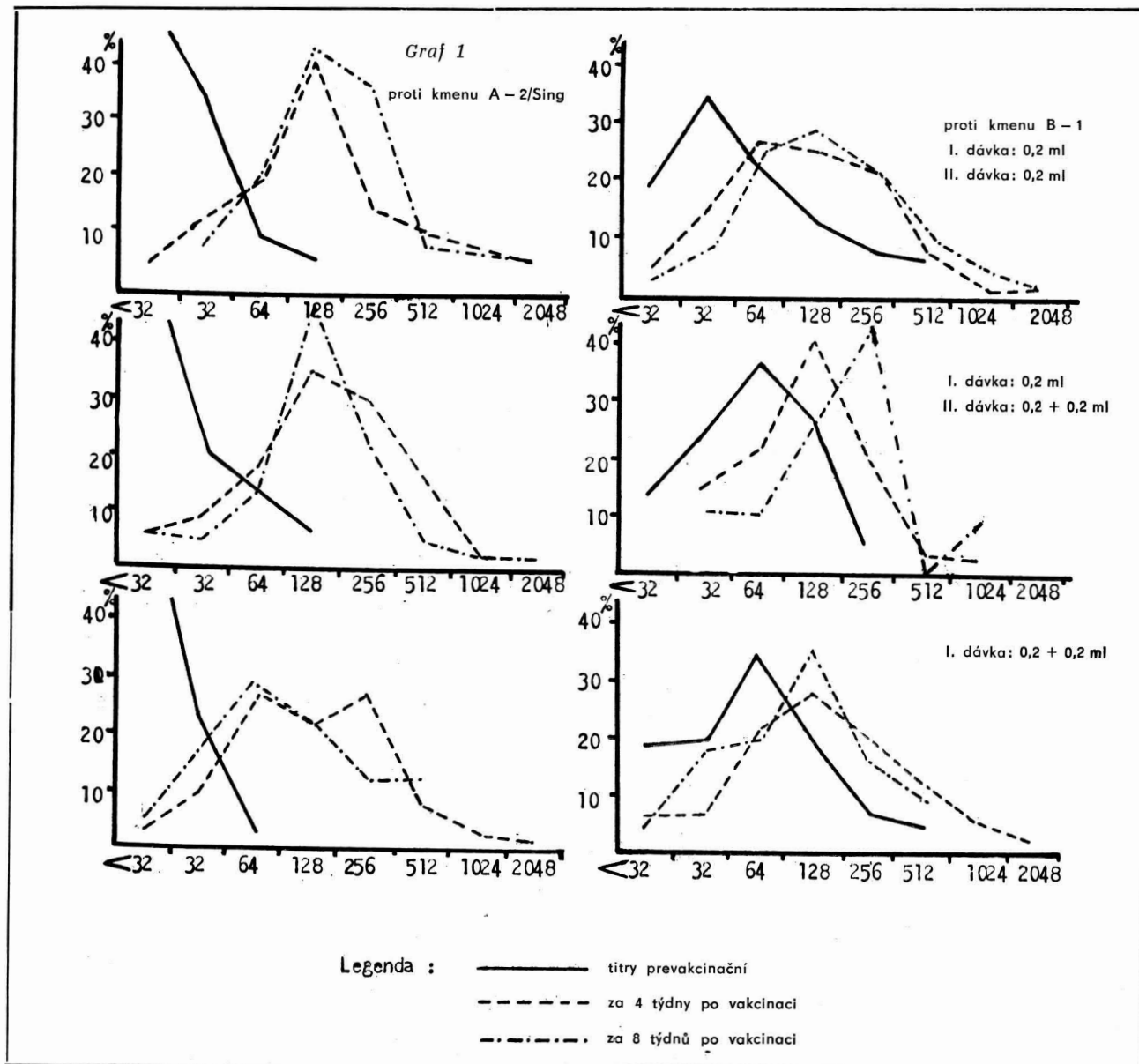
I když prevakcinační titry protilátek byly v souboru očkovaných intradermální (i. d.) dávkou 0,2 ml + 0,2 ml významně nižší než v souboru očkovaných dávkou 0,2 ml i. d., zaznamenali jsme po aplikaci uvedených dávek u obou souborů stejné poočkovací titry protilátek proti kmenu A-2/Sing (stejný ST). Výsledné hladiny protilátek proti kmenu B-1 byly významně vyšší po očkovací dávce 0,2 ml + 0,2 ml i. d. jenom

podle ST, i když základní titry protilátek byly statisticky stejné. Proporce titrů $\geq 1:128$ byla po této aplikaci vyšší jen numericky (ne statisticky významně).

Při porovnávání výsledků po podkožních aplikacích vakcíny jsme v poočkovacích titrech nezjistili významné rozdíly ani proti kmenu A-2/Sing, ani proti kmenu B-1. Všeobecně měla subkutánní aplikace významně nižší antigenní efekt než aplikace intradermální. Projevilo se to jak na statisticky významně nižší proporcii titrů $\geq 1:128$, tak i na postvakcinačním ST. Nejvýrazněji je to vidět na diferencích mezi titry prevakcinačními a postvakcinačními.

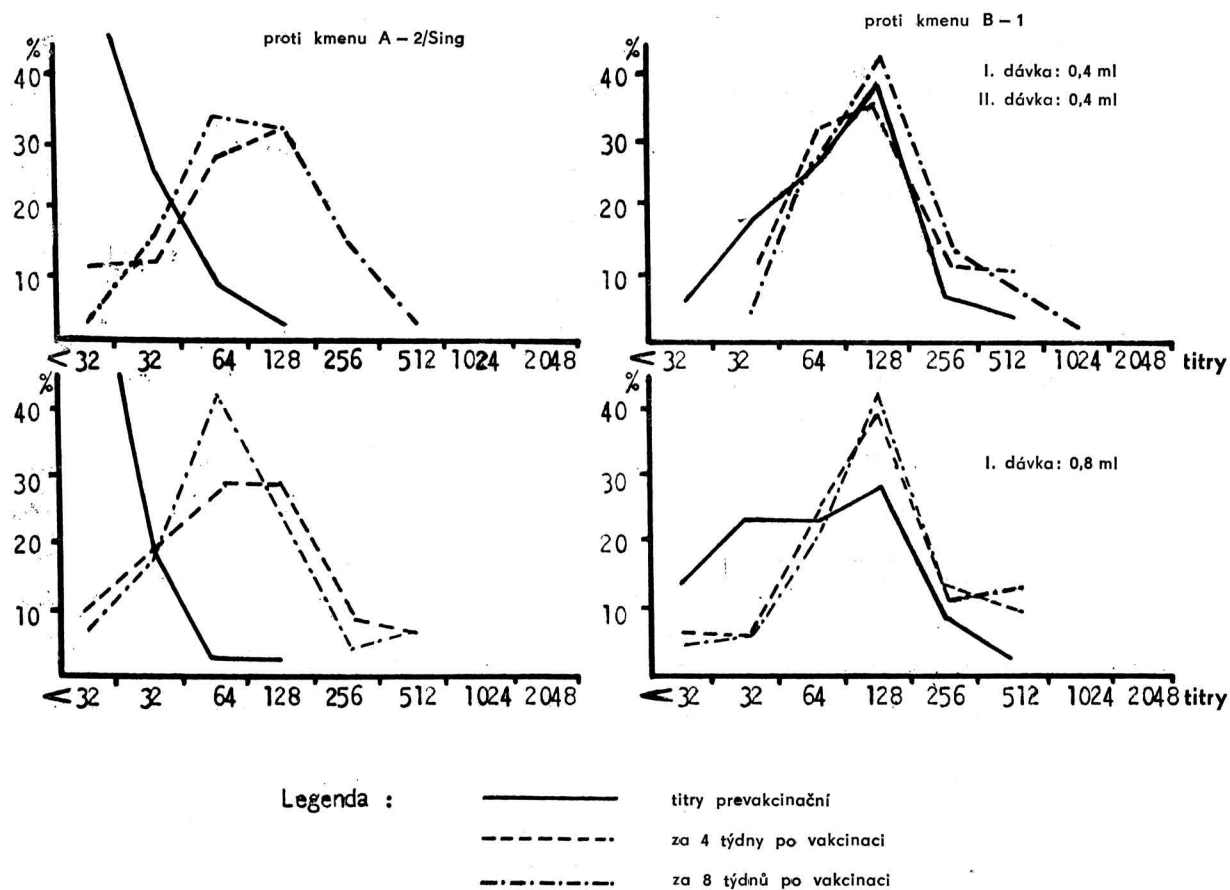
V souborech, které nebyly přeočkovány, nedošlo za 8 týdnů k statisticky významným změnám v hladinách protilátek. Pouze u očkovaných dávkou 0,8 ml s. c. se hladina protilátek proti kmenu B-1 mírně zvýšila; ani tato změna však nedosáhla stupně statistické významnosti.

Rozložení HI protilátek u osob očkovaných intradermálně



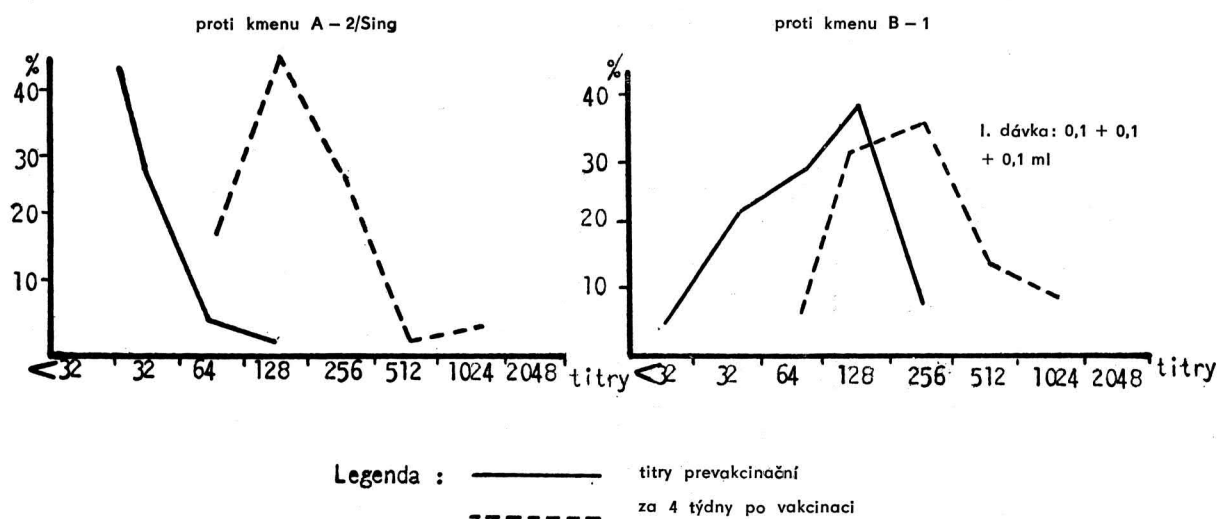
Rozložení HI protilátek u osob očkovaných subkutánně

Graf 2



Rozložení HI protilátek u osob očkovaných dávkou 0,1 + 0,1 + 0,1 intradermálně

Graf 3



Tabulka 4

Hemaglutinačně-inhibiční protilátky před podáním druhé dávky očkovací látky a za 4 týdny po jejím podání (podle proporce titrů $\geq 1:128$).

Dávka	Počet vyšetřených	A-2/Sing			B-1		
		před %	po %	dif %	před %	po %	dif %
0,2 ml i. d.	65	67,6 ⁺⁺	70,7 ⁺⁺	3,1	56,2	65,6	9,4
0,2 + 0,2 ml i. d.	37	70,2 ⁺⁺	78,3 ⁺⁺	8,1	64,8	78,3	13,5
0,4 ml s. c.	47	48,9	48,9	0,0	55,3	68,0	12,7

Tabulka 5

Hemaglutinačně-inhibiční protilátky před podáním druhé dávky očkovací látky a za 4 týdny po jejím podání (podle středního titru — ST)

Dávka	Počet vyšetřených	A-2/Sing			B-1		
		před	po	dif	před	po	dif
0,2 ml i. d.	65	3,06 ⁺⁺	3,13 ⁺⁺	0,07	2,90	3,17	0,27
0,2 + 0,2 ml i. d.	37	3,14 ⁺⁺	3,28 ⁺⁺	0,14	2,84	3,35	0,51
0,4 ml s. c.	47	2,62	2,54	—0,08	2,74	3,02	0,28

Vysvětlivky:

++ významné rozdíly v základních nebo výsledných titrech mezi skupinami očkování i. d. a s. c.

Žádná z aplikací a dávek použitých na přeočkování neměla statisticky významný vliv na zvýšení hladin protilátek proti kmenům A-2/Sing a B-1.

Po aplikaci dávky 0,1 ml současně do tří míst jsme dosáhli překvapivě vysoké protilátkové odpovědi podle obou ukazatelů, i když celková dávka očkovací látky byla poměrně nízká.

Tabulka 6

Hemaglutinačně-inhibiční protilátky před očkovaním a za 4 dny po očkovaní dávkou 0,1 + 0,1 + 0,1 ml intradermálně

	Počet vyšetřených	A-2/Sing			B-1		
		před	po	dif.	před	po	dif.
Podle proporce titrů $\geq 1:128$	39	2,5 %	82,0 %	79,5 %	46,1 %	94,8 %	48,7 %
Podle středního titru (ST)		1,28	3,31	2,03	2,35	3,92	1,57

Tabulka 7

Procento významných vzestupů hemaglutinačně-inhibičních protilátek u očkovaných v závislosti na počátečních hladinách protilátek

		Počáteční titry hemaglutinačně-inhibičních protilátek proti A-2/Sing a B-1 u očkovaných					
		<32	32	64	128	256	512
Procento významných vzestupů protilátek u očkovaných	proti A-2/Sing	81	77	27	0	0	0
	proti B-1	57	36	22	18	10	0

Tak jako v naší první práci, i tentokrát jsme pozorovali, že první dávka očkovací látky byla sledována významným vzestupem hladin protilátek proti oběma chřipkovým kmenům použitým v sérologickém testu. Míra tohoto vzestupu byla v nepřímé závislosti na počáteční hladině hemaglutinačně-inhibičních protilátek.

Diskuse

Podkožní aplikace jsme zkoušeli jednak z praktických důvodů (v případě nutnosti hromadného očkování dostatečně neerudovaným personálem) a jednak proto, že jsme si chtěli porovnat oba způsoby aplikace. Ukázalo se, že při podkožním podání očkovací látky nebylo dosaženo tak vysokých hladin protilátek, jako při aplikaci intradermální, i když bylo použito dvojnásobných až čtyřnásobných dávek vakcíny. Přitom nevýznamný vzestup protilátek proti kmenu B-1 po dávce 0,4 ml s. c. byl pravděpodobně podmíněn významně vyšší proporcí titrů $\geq 1:128$ před očkovaním.

Uvažováno mechanicky, bylo by možno očekávat, že dalším zvyšováním množství podkožně aplikované vakcíny bude dosaženo takového stupně protilátkové odpovědi, jako při aplikaci intradermální. Saslaw (1, 2, 3) porovnával protilátkovou odezvu proti řadě chřipkových kmenů po očkovacích dávkách 0,1 ml i. d. a 1,0 ml s. c., tedy po podkožních dávkách desetkrát větších než intradermálních. Zjistil, že titry protilátek dosažené podkožní aplikací očkovací látky byly statisticky stejné až signifikantně vyšší než titry protilátek dosažené po intradermálním podání vakcíny. Protože však zvyšováním dávek se zvyšuje i riziko reakcí z přecitlivělosti, nepovažujeme tento postup za vhodný, i když mezi našimi očkovanými jsme žádnou alergickou reakci nepozorovali.

Z výsledků získaných intradermálními dávkami 0,2 ml a 0,2 + 0,2 ml vyplývá, že dvojnásobná dávka vakcíny vede k většímu vzestupu hladin

protilátek. Tento vzestup však není dostatečně adekvátní inokulovanému množství očkovací látky. Rovněž jsme nepozorovali tak značné rozdíly v závislosti na velikosti dávky vakcíny při intradermální aplikaci jako v naší první práci. Toto pozorování se zakládá výhradně na výsledcích, které jsme obdrželi vyšetřením sér očkovaných s antigenem A-2/Sing. U poodčkovacích reakcí sledovaných protilátkovou odezvou proti antigenu B-1 nelze toto srovnání provádět vzhledem k vyšším prevakcinačním titrům protilátek.

Schůdnější cestou k dosažení vyšší protilátkové odpovědi se jeví intradermální aplikace očkovací látky do více míst, které náleží k spádovým oblastem různých lymfatických uzlin (4), tzn. rozložení daného množství očkovací látky do více než dvou pupenů. Očekávali jsme, že tímto způsobem bude mobilizován větší počet imunokompetentních buněk a že protilátková tvorba bude proto mohutnější. Získané výsledky potvrdily naše očekávání, ale bolestivé reakce a prachnější postup vylučují tento způsob aplikace z praktického použití. Okolnost, že intradermální aplikace se jeví účinnější než aplikace podkožní, si vysvětlujeme vytvořením granulomu, v němž se antigenní podnět uplatňuje déle než v podkoží, odkud je antigen, vázaný na kalciumfosfát, rychleji vyplavován.

Znovu se potvrdilo, že opakovaná aplikace očkovací látky v rozmezí jednoho měsíce nevede k dalšímu významnému vzestupu protilátek, ať už očkujeme intradermálně či subkutánně (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12). I když nacházíme v literatuře i odlišné údaje, hodnotící význam intervalu mezi první a druhou injekcí protichřipkové očkovací látky na výslednou hladinu protilátek (13), je téměř jisté, že tento interval musí být podstatně delší než jeden měsíc (5, 6).

Závěry

1. Všeobecně byly nižší počáteční hemaglutinačně-inhibiční titry protilátek v sérech očkovaných sledovaný větším vzestupem protilátek po očkování.
2. Ukázalo se, že protichřipková očkovací látka adsorbovaná na kalciumfosfát a podaná intradermálně je lepším antigenním podnětem než tatáž látka podaná podkožně.
3. Zdá se, že na mohutnosti protilátkové odpovědi na očkovací látku se může uplatnit i počet míst, ze kterých antigenní popud vychází.
4. Přeočkování po jednom měsíci prakticky neovlivnilo hladiny protilátek dosažené první očkovací dávkou.
5. Doporučovaná intradermální dávka 0,2 ml se podle výsledků získaných hodnocením protilátkové odpovědi jeví dostatečně účinnou.
6. Je možné, že i některé jiné očkovací látky podané intradermálně by byly účinnější, než jak tomu je při jejich dosud běžném podávání cestou podkožní nebo nitrosvalovou.

Souhrn

Protichřipkovou vakcínou adsorbovanou na kalciumfosfát s deklarovaným obsahem 2000 j. A-2/57, 2000 j. A-2/64 a 4000 j. B, kterou vyrobil ÚSOL Praha, pobočka Michalany, jsme očkovali intradermálně a subkutánně v různých dávkách vojáky v základní službě. Protilátkovou odezvu jsme sledovali pomocí hemaglutinačně-inhibičního testu s antigeny A-2/Sing a B-1 u 322 vojáků.

Zjistili jsme, že očkovací látka podaná intradermálně má lepší imunizační efekt než tatáž látka podaná podkožně v dávkách až čtyřikrát větších. První dávka očkovací látky byla sledována výraznou protilátkovou odezvou bez ohledu na velikost dávky a způsob aplikace. Po přeočkování dávce podané za jeden měsíc nedošlo k dalšímu významnému vzestupu titrů protilátek. Dále byla ověřena nepřímá závislost povakcinačních hladin protilátek na výšce hladin prevakcinačních. Zdá se rovněž, že existuje přímá závislost výšky titrů poodčkovacích protilátek na počtu míst, ze kterých antigenní popud vychází.

Literatura

1. Saslaw, S., Carlisle, N. H., Slutzker, B.: Antibody response to polyvalent influenza virus vaccine administered intradermally or subcutaneously in an aged population. *Am. J. med. Sci.* 245, 1963, 4:387—398.
2. Saslaw, S., Carlisle, N. H., Perkins, L. R.: Effect of dosage and influenza vaccine content on antibody response in an aged population. *Am. J. med. Sci.* 253, 1967, 6:710—717.
3. Saslaw, S.: Effect of dosage and influenza vaccine content on antibody response in medical students. *Am. J. med. Sci.* 253, 1967, 6:710—717.
4. Patočka a spol.: Obecné základy lékařské mikrobiologie, skripty, 1966.
5. Hilleman, M. R., Flatley, F. J., Anderson, S. A., Luecking, M. L., Levinson, D. J.: Antibody response in volunteers to Asian influenza vaccine. *J. A. M. A.* 1958, 166:1134.
6. Meiklejohn, G. N.: Asian influenza vaccination: dosages, routes, schedules of inoculation and reactions. *Am. Rev. resp. Dis.* 83, 1961, 2:175-177.
7. Mogabgab, W. J., Holmes, B., Brightwell, R. J., Resler, Ch. W.: Effect of dosage and interval injections on the antibody response to polyvalent influenza vaccine. *J. lab. clin. Med.* 1961, 58:391.
8. Hobson, D., Lane, Ch. A., Beare, A. S., Chivers, C. P.: Serological studies on adult volunteers inoculated with oil — adjuvant Asian influenza vaccine. *Brit. med. J.* 2, 1964, 5404:271.
9. Adam, F., Burian, V., Kubátová, E., Dolejší, H., Dvořák, K., Škvrnová, K., Zikmund, V.: Očkování zdravotně stigmatizovaných dospělých osob proti chřipce inaktivovanou vakcínou. *Čas. lék. Čes.* 1965, 104:614—621.
10. Clark, M. L., Reinhardt, H., Miller, M. C., Wilson, R.: Polyvalent influenza vaccine: comparison of jet injection with intradermal and subcutaneous syringe methods of administration. *J. lab. Clin. med.* 66, 1965, 1:34.
11. Voth, W. D., Feldman, A. H., Steinschneider, A.: Comparative responses of elderly persons to aqueous and depot influenza vaccines. *Arch. Environ. Health* 13, 1966, 5:576—585.
12. Forsyth, J. R. L., Russel, E. E.: An assessment of oil — adjuvant and aqueous influenza vaccines. II. Antibody responses to the vaccines. *J. Hyg.* 65, 1967, 4:497-504.
13. Candler, M. L.: Intradermal vaccination in healthy adults with type A Asian strain influenza vaccine. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 103, 1960, 151.