

CHŘIPKA – STÁLE AKTUÁLNÍ A NOVÁ

doc. MUDr. Roman Chlíbek, Ph.D.

Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany, Hradec Králové

Chřipka je jedno z nejčastějších infekčních onemocnění. Každý rok je možné označit rokem chřipky. Její dopady postihují v podobě zdravotních potíží nejenom nemocného jedince, ale v sociální oblasti populaci na celém světě. Chřipkové epidemie typické pro zimní měsíce roku jsou známé svou explozivností a typickým šířením. Zpočátku bývá nejvyšší nemocnost mezi dětmi, zvláště pak mezi mladšími školáky. Mortalita této věkové skupiny je extrémně nízká. Tyto nemocné děti pak relativně snadno přenášejí onemocnění dále v populaci a infikují zejména vlastní rodiče. Starší část populace je obvykle poslední cílovou skupinou chřipky, ovšem je hlavní rizikovou skupinou co se týče vzniku komplikací a následných úmrtí. Chřipka je onemocnění, které přes znalost původce, klinický obraz po možnosti léčby a prevence stále překvapuje něčím novým. Objevila se postupná adaptace ptačích chřipkových virů na savce, včetně člověka, a došlo již k prvním interhumánním přenosům. Stoupá počet rezistencí na dostupná antivirotika, dosud není zaregistrovaná vakcína proti H5N1 viru a stále probíhá vývoj technologie přípravy možné pandemické vakcíny. Snaha zvýšit imunogenitu vakcín vede k přidávání nových adjuvantů do vakcín nebo používání nových intradermálních cest aplikace. Rozšiřují se indikační skupiny vakcinace, která je již v řadě zemí doporučována jako rutinní i u dětí. Objevily se i nové možnosti v expresní diagnostice chřipky do 30 minut, která se stále více posouvá i do ordinací lékařů prvního kontaktu s minimálními požadavky na materiálové vybavení.

Klíčová slova: chřipka, expresní diagnostika, antivirotika, vakcinace.

Med. Pro Praxi 2008; 5(9): 301–304

Úvod

Chřipka je onemocnění plné paradoxů. Je s námi století a možná i tisíciletí. O chřipce lze říci, že má „něco pro každého“. Pro virologa je zajímavá a současně stále neznámá. Neznámá hlavně v trvale nových interakcích chřipkového viru s buněčnými bílkovinami hostujících buněk v rámci replikací viru, neznámá v předpovědích neustálých změn genomu viru a rychlé molekulární evoluce. Pro klinika má chřipka neustále připraveny diagnostické a klinické záležitosti během cyklických chřipkových sezón. Pro epidemiologa je chřipka stále aktuálním a potenciálně nebezpečným onemocněním s možností vzniku nových smrtících pandemií. Nikdo neví, proč chřipka, která postihne tisíce lidí v mnoha zemích v podobě epidemie či pandemie, najednou po určité době zmizí a za tři čtvrtě roku se objeví znovu, ale to již vyvolaná změněným virem s odlišnou antigenní výbavou. Chřipka je také někdy označována jako re-emergentní (znovu se objevující) onemocnění. Ke známým každoročním drobným driftovým změnám v antigenní výbavě chřipkového viru A (17) a výrazným změnám genomu – shiftovým změnám, které se objevují s ne zcela přesnou periodou v delších, řádově desetiletých intervalech, se přidává nový fenomén. Fenomén postupné adaptace i jiných ptačích chřipkových virů na savce. Jednou ze známek této adaptace je onemocnění lidí vyvolané ptačími chřipkovými viry. Přesto, že se již objevily první interhumánní přenosy, nikdo neodhadne, kdy a v jakém rozsahu se objeví nová pandemie. Jestliže nejkratší interval mezi zdokumentovanými pandemiemi je 9 let a nejdelší interval je 39 let, tak současný interval od poslední pandemie je téměř 40 let. Nově se začíná objevovat i rezistence chřipkových virů na některá známá an-

tivirotika (např. již i na oseltamivir), což do budoucna může přinést řadu změn v uvažovaném užívání antivirotik v chemoprophylaxi chřipky např. během pandemie, v době, kdy nebude ještě dostupná nová pandemická vakcína. Objevily se i nové možnosti v diagnostice chřipky, která se stále více posouvá i do ordinací lékařů prvního kontaktu s minimálními požadavky na materiálové vybavení (9).

Podceňování chřipky jako onemocnění není na místě a úmrtí na její komplikace není ničím výjimečným. Kdekdok zná smutnou historii epidemie moru, označovaného někdy také jako černá smrt, ale málokdo si uvědomuje, že chřipka v absolutním počtu mrtvých pomalu mor dohání (14). Na celém světě zemřelo daleko více osob na chřipku než na onemocnění AIDS.

Po řadu let se v prevenci a kontrole chřipky používaly stejné metody. Nyní se zdá, že v této chřipkové chronologii jsme dosáhli nového, významného bodu, kdy se na horizontu objevují nové možnosti prevence a léčby. Jsou to zejména nové očkovací látky v podobě živých atenuovaných vakcín, nové adjuvantní systémy ve vakcínách, nové způsoby intradermální aplikace a antivirotika na bázi inhibitorů neuraminidázy.

Diagnostika chřipky

Rychlá a správná diagnostika chřipky má zásadní význam pro její vhodnou a účinnou léčbu. Zvláště včasná diagnostika chřipky může redukovat často neuváženou a nevhodnou léčbu antibiotiky a umožnit zahájit včasnou antivirovou léčbu inhibitory neuraminidázy, které se musí aplikovat do 48 hodin od prvních příznaků (5). Z hlediska časové náročnosti a možnosti provedení prakticky kdekoliv stojí na prvním místě **expresní metody diagnostiky**, poskytu-

jící výsledek vyšetření za 10–30 minut (7), tedy ještě během návštěvy pacienta u lékaře. Dnes existuje již několik poměrně jednoduchých komerčních souprav, které mohou detekovat chřipku v krátkém čase bez nároků na složité materiálové vybavení. Tyto soupravy přímo prokazují barevnou změnou přítomnost antigenu chřipkového viru v klinickém materiálu (nazofaryngeální výtěr). Některé testy prokazují pouze přítomnost chřipkového viru typu A, příkladem takových setů je např. Directigen Flu A, Quick View (Quidel, USA), Infl A Respstrip (Coris BioConcept, Belgie), Flu OIA (Biostat, USA). Jiné testy detekují jak typ A, tak i chřipkový virus typu B, ale nejsou schopny je navzájem rozlišit. Příkladem těchto testů je Directigen Flu A/B (Becton Dickinson, USA), Infl A/B Quick Seiken (DenkaSeiken, Japonsko), Now Flu A/B (Binax, USA), Influenza Rapid A/B test (Roche, Švýcarsko). Cena těchto komerčních setů je zatím poměrně vysoká a jedno takové vyšetření přijde přibližně na 600 až 700 Kč. Porovnáme-li to však s cenou časté a v případě prokázané chřipky i zbytečné terapie antibiotiky, pak již finanční rozdíl není tak veliký. Zatím více dostupné jsou v běžné praxi **rychlé diagnostické metody**, s výsledkem za 6–20 hodin, jako ELISA nebo imunofluorescence (IF), které slouží k rychlému průkazu virového antigenu v nazofaryngeálním výtěru. Metoda ELISA je dostupná ve všech virologických laboratořích. Metoda imunofluorescence prokazující přímo infikované buňky je dostupná pro svoji větší náročnost pouze na některých pracovištích a používá se spíše vzácně. Určitou nevýhodou metody ELISA je získání výsledku za 20–24 hodin, tedy až druhý den. **Klasické virologické metody** diagnostiky, tedy izolace viru na kuřecím embryu nebo sérologie, mají význam z epidemiologického hlediska, k určení cir-

kulujícího kmene viru a specifikace epidemie, nikoliv z hlediska léčby akutního pacienta. Výsledek těchto metod je k dispozici až za 10–20 dní.

Léčba chřipky antivirotiky

Také v léčbě chřipky se objevily nové možnosti, které současně pronikají i do chemoprophylaxe chřipky a poměrně účinně tak doplňují nejvýznamnější metodu prevence chřipky – očkování.

Ještě na začátku 60. let 20. století neexistoval žádný specifický lék pro léčbu chřipky. Používala se pouze symptomatická léčba ke zmírnění obtíží. Teprve v roce 1966 se stalo v některých zemích dostupné specifické antivirotikum amantadin – inhibitor kanálového proteinu M2. V roce 1993 se objevil další lék – rimantadin, který byl zpočátku schválen pouze pro osoby starší 18 let. Oba tyto preparáty jsou účinné pouze v léčbě a profylaxi chřipky typu A, nikoliv však chřipky B. Oba přípravky se liší ve farmakokinetice, výskytu nežádoucích reakcí a ceně. V České republice byl od roku 1993 nejvíce znám přípravek Viregyt-K pro děti starší 1 roku a pro dospělé. Při profylaktickém podávání je nezbytné podávat 2x denně 100 mg dlouhodobě po celou dobu zvýšené chřipkové aktivity. Tento lék však nenašel příliš velkého uplatnění ani v profylaxi chřipky ani v její léčbě, přestože dle výsledků klinických studií je jeho efektivita v prevenci vzniku chřipky 70–90 %. Nevýhodou těchto přípravků je poměrně častý vznik rezistence i během léčby a častý výskyt nežádoucích reakcí (12). Rimantadin (přípravek Maridin) byl v ČR registrován, ale není dovážěn.

Určitým zlomem v možném rozšíření používání antivirotik v prevenci a léčbě chřipky se stala nová generace antivirotik – inhibitorů neuraminidázy.

Zanamivir a oseltamivir jsou přípravky této nové třídy antivirotik, které selektivně inhibují povrchový antigen – neuraminidázu obou chřipkových virů A i B. Inhibicí neuraminidázy je tak zabráněno výstupu chřipkových virů z infikovaných buněk a dalšímu šíření infekce v epitelu dýchacích cest. První zmínky o těchto nových přípravcích se datují rokem 1993 u zanamiviru a rokem 1998 u oseltamiviru. V roce 1999 byly schváleny v USA (2).

Zanamivir je určen pro léčbu a prevenci chřipky u adolescentů a dospělých ve věku 12 a více let. V případě léčebného podávání se maximálního efektu dosáhne při zahájení léčby do 2 dnů od vyjádřené symptomatologie. Během prvních dnů onemocnění právě dochází k replikaci chřipkových virů v buňkách epitelu dýchacích cest a v tuto dobu jsou inhibitory neuraminidáz účinné. V podobě prášku je určen k inhalaci pomocí diskhaleru. V léčbě se inhalují 2x denně 2 dávky (10 mg), při profylaktickém podávání se aplikují 2 inhalace pouze 1x denně po celou dobu možné expozice.

V České republice je registrován od září roku 2000 pod prodejním názvem Relenza.

Oseltamivir je určen k léčbě nekomplikované chřipky dětí i dospělých, kteří mají vyjádřenou symptomatologii onemocnění ne déle než 2 dny. Přípraven je v podobě suspenze nebo kapslí, které se podávají každých 12 hodin po dobu 5 dnů.

Užívání těchto inhibitorů neuraminidázy aplikovaných během prvních dvou dnů onemocnění zkracuje trvání závažných symptomů nekomplikované chřipky o 1–3 dny a snižuje pravděpodobnost vzniku komplikací. Nejvíce klinických údajů o efektivnosti těchto přípravků se týká léčby chřipky A. Nicméně in vitro prováděné pokusy a pokusy na zvířatech ukázaly účinnost i v léčbě chřipky B. Efektivita zanamiviru v prevenci vzniku laboratorně potvrzené chřipky je 84 %, u oseltamiviru 82 %. U zanamiviru je podle výsledků farmakokinetických studií 70–87 % inhalovaného přípravku deponováno v orofaryngu (6, 16), 7–21 % se dostává do žaludku. Přibližně 4–17 % podané dávky se celkově vstřebává. U oseltamiviru je přibližně 80 % orálně aplikované dávky vstřebáno. Vstřebaný oseltamivir je metabolizován jaterními esterázami na aktivní inhibitor neuraminidázy a jeho poločas je 6–10 hodin. Zanamivir se jeví díky inhalační cestě podávání jako vhodnější lék pro přímé, lokální působení v dýchacích cestách, v místech, kde dochází k replikaci viru. Inhalační aplikace ho však mírně diskredituje zejména u starých osob, které nemusí tuto aplikaci vždy bez cizí pomoci zvládnout. Riziko vzniku rezistence je u zanamiviru zase nižší než u ostatních antivirotik.

Čtyři dosud známá antivirotika pro prevenci a léčbu chřipky ukazuje tabulka 1.

V určitých případech se antivirotika doporučují také k chemoprophylaxi chřipky:

- 1. V případech kontraindikace očkování kdykoliv** – u osob se známou alergií na vaječnou bílkovinu či jiné komponenty vakcíny, u osob s anafylaktickou reakcí po předchozí vakcinaci, u osob se závažnou imunodeficiencí nebo chronickou imunosupresivní léčbou (např. prednison v dávce > 0,5 mg/kg/d).
- 2. Během epidemie** – u osob z rizikových skupin, které nebyly očkovány, u neočkovaných osob v uzavřených komunitách (léčebny dlouhodobě nemocných, sociální ústavy), rodinné či jiné blízké kontakty osob nemocných chřipkou, u osob, které odmítají očkování, ale chtějí se vyvarovat chřipky.
- 3. Během pandemie** – samostatná profylaxe v době, než bude k dispozici pandemická vakcína, kombinace profylaxe s očkováním do doby, než dojde k vytvoření protektivních postvakcinačních titrů protilátek. Pro tyto účely je také k dispozici přípravek Tamiflu ve státní rezervě, který

byl použit v souladu s existujícím Národním pandemickým plánem.

Nejvýznamnější metodou prevence chřipky je ovšem očkování, které ani v současnosti není ničím překonáno.

Očkování proti chřipce

Technologický postup výroby chřipkových vakcín prodělal v průběhu let řadu změn. První snahy připravit očkovací látku účinnou proti chřipce byly zahájeny ke konci 30. let 20. století. První vakcíny obsahovaly celý chřipkový virus, který byl po pomnožení usmrcen. Největší urychlení vývoje protichřipkových vakcín je spojeno s „asijskou chřipkou“, tedy pandemií v roce 1957–1958. Od tohoto období 60. let se začaly používat již mnohem čistší očkovací látky obsahující fragmentovaný virus (rozštěpený). V 70. letech byla zahájena výroba vakcín obsahující pouze povrchové, antigenně významné struktury viru (tzv. „sub unit“ – subjednotkové vakcíny) (13). Existují tedy celkem tři druhy vakcín – celovirionové, štěpené (Fluarix, Begrivac, Vaxigrip) a subjednotkové (Fluad, Influvac). V praxi se více používají vzhledem k velké reaktogenitě celovirionových vakcín pouze poslední dva typy. Všechny u nás používané vakcíny jsou trivalentní, to znamená, že obsahují 3 kmeny chřipkových virů, dva typu A a jeden typu B. Ke zlepšení imunogenity vakcín se vyvinula nová adjuvans, jako je patentovaná emulze MF 59 (olej ve vodě), která je součástí vakcíny Fluad a vykazuje vyšší imunogenitu zvláště u starších osob (7), ale nyní je doporučována i pro děti. Probíhají klinické zkoušky s vakcínami na bázi buněčných kultur (vero buňky, humánní diploidní buňky), které nejsou závislé na produkci vajec a umožní rychlou produkci velkého množství vakcíny, zejména v době pandemie, kdy bude nedostatek „klasické“ vakcíny.

Vakcína se nejčastěji aplikuje intramuskulárně, přednostně do deltového svalu v jednodávkovém schématu. Druhá dávka již nezvyšuje imunitní odpověď (11). Aplikace dvou dávek s měsíčním odstupem je doporučena pouze u dětí dosud nikdy neočkovaných ve věku do 9 let (3). Optimální doba zahájení vakcinace je před začátkem chřipkové sezóny, v období od října do listopadu, prakticky až do prosince, protože v posledních letech chřipkové epidemie začínaly většinou až v měsíci lednu. Vakcínu je také možno simultánně aplikovat v jeden den, do různých míst s ostatními vakcínami, jako např. proti virovým hepatitidám, klíšťové encefalitidě, pneumokokovým nákazám (10) apod. V současnosti se objevila možnost intradermální aplikace pomocí mikroinjekčního systému Becton Dickinson (jehla délky 1,5 mm), kdy se aplikuje pouze 0,1 ml objemu. Při této aplikaci bylo v klinických studiích dosaženo vysoké sérokonverze

a séroprotektce, ovšem s vyšší lokální reaktogenitou. Dominujícím příznakem bylo zarudnutí, které se objevilo až u 70 % očkovanych, proti 15 % zarudnutí u i. m. aplikace.

Očkování proti chřipce se doporučuje ve 3 základních skupinách indikací z hlediska jasných lékařských, sociálních a ekonomických důvodů (1):

1. Skupina osob s vysokým rizikem rozvoje chřipkových komplikací a úmrtí – osoby ve věku 65 let a více (v USA 50 let a více), pacienti z léčeben pro dlouhodobě nemocné v jakémkoli věku, obyvatelé domovů důchodců, dospělí nebo děti s chronickým kardiovaskulárním nebo respiračním onemocněním, pacienti s metabolickým nebo renálním onemocněním, hemoglobinopatií nebo imunodeficitními stavy, děti a adolescenti ve věku 6 měsíců až 18 let s dlouhodobě prováděnou aspirinovou léčbou, kteří mohou být v riziku rozvoje Reyeova syndromu po prodělané chřipce, těhotné ženy, které budou během chřipkové sezóny ve 2. či 3. trimestru. WHO doporučuje proočkovat v rozvinutých zemích 75 % osob ≥ 65 let do r. 2010.

2. Skupina osob, která může lehce přenést chřipku do rizikových skupin – lékaři, sestry a další zdravotničtí pracovníci, zaměstnanci

Tabulka 1. Přehled existujících antivirotických přípravků k léčbě chřipky

Generický název	Výrobní název v ČR	Věková skupina	Aplikace	Dávkování	Indikace (chřipkový virus)	Doba léčby
amantadin	PK-MERZ, Viregyt-K	> 1 rok	per os	2x 100 mg	A	8 dnů
rimantadin	MARIDIN	1–10 let > 10 let	per os	5 mg/kg 2x 100 mg	A	7 dnů
zanamivir	RELENZA®	> 12 let	inhalace	2x 10 mg	A+B	5 dnů
oseltamivir	TAMIFLU®	1–12 let > 13 let	per os	30–45 mg/kg 2x 75 mg	A+B	5 dnů

léčeben dlouhodobě nemocných a domovů důchodců, pracovníci zabývající se pečovatelskou službou, členové rodin osob s vysokým rizikem rozvoje chřipkových komplikací.

3. Skupina osob, které by mohly mít z vakcinace prospěch (prevence nemocnosti) – osoby zaměstnané ve službách vysoké důležitosti (energetika, doprava, školství, policie, armáda), adolescenti v internátních školách, studenti bydlící na kolejích, ostatní osoby, které si přejí vyvarovat se onemocnění.

Vakcinace rizikových skupin může výrazně snížit negativní dopad případné chřipkové epidemie nebo pandemie nejen na tuto skupinu, nýbrž na populaci jako celek.

Očkování dětí

Významnou, o to více opomíjenou je prevence chřipky u dětí. Přitom incidence chřipky je všeobecně nejvyšší právě u dětí. Děti jsou také nejčastějším zdrojem chřipky pro dospělé populaci a v posledních letech stojí na počátku každoročních epidemií, které vždy začínají v dětské populaci a následně se virus přenesou mezi dospělými. Malé děti jsou mimořádně vnímavé k bakteriálním komplikacím chřipky, jako je např. otitis media. Počty hospitalizací pro nemoci spojené s chřipkou jsou podobné počtům hospitalizací u dospělých v rizikových skupinách nebo u starších osob, kde je vakcinace masivně doporučována (19). Přesto, že v některých zemích je očkování proti chřipce u zdravých dětí doporučováno (3, 8), není příliš rozšířeno. Očkování proti chřipce u dětí je stále

neprávem opomíjeno i přes fakt prokázané účinnosti (4, 15). Některé státy již tuto vakcinaci u zdravých dětí běžně provádějí. Celkem se jedná o 8 států, kde očkování všech dětí doporučují (USA, Finsko, Rakousko, Kanada, Chile, Korea, Taiwan, Mexiko).

Závěr

Nové možnosti rychlé diagnostiky, léčby i prevence chřipky nás nemohou uklíbat v pocitu, že chřipku máme pod kontrolou a nemá nás čím překvapit. Existuje celá řada situací, které tuto kontrolu negativně ovlivňují. Je zde nekontrolovatelné chování chřipkového viru nadaného vysokou variabilitou, je zde hrozba nové pandemie, jsou zde stále

přetrvávající limitace dnešních vakcín (omezená produkce co do množství, pomalý růst viru na kuřecích embryích a riziko jejich usmrcení virulentnější variantou viru), je zde riziko vzrůstajících rezistencí na nová antivirotika, objevila se i rezistence ptačích chřipkových virů (H5N1) na amantadin-rimantadin a na oseltamivir. Samotná antivirotika mají také svá omezení, jako je nutnost dlouhodobého podávání při chemoprophylaxi, nezbytnost včasného podání při léčbě, vysoká cena, poměrně časté nežádoucí účinky a nedostatečný efekt na snižování výskytu chřipkových komplikací. Je jen několik málo onemocnění, která mají za následek tolik trápení, pracovních neschopností, lékařských vyšetření, hospitalizací,

úmrtí a ekonomických ztrát, jako je chřipka. Proto si chřipka zaslouží přece jenom více pozornosti, než jí bylo u nás dosud věnováno. Do budoucna bude nezbytné zvýšit zejména proočkovanost české populace jako nejefektivnějšího nástroje minimalizace dopadů chřipky.

Převzato z Interní Med. 2008; 10(9): 388–391.

doc. MUDr. Roman Chlíbek, Ph.D.

Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany
Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové
e-mail: chlibek@pmfhk.cz

Literatura

1. Anonymous. Prevention and control of influenza. Recommendation of the Advisory Committee on Immunization Practices. *Morb Mortal Wkly Rep* 2000; 49: 1–38.
2. Anonymous. Neuraminidase inhibitors for treatment of influenza A and B infections. *Morb Mortal Wkly Rep* 1999; 48: 14.
3. Anonymous. Prevention and control of influenza. Recommendation of the Advisory Committee on Immunization Practices. *Morb Mortal Wkly Rep* 1996; 45: 1–23.
4. Belshe RB, et al. Live attenuated versus inactivated influenza vaccine in infants and young children. *N Engl J Med* 2007; 356: 685–696.
5. Beran J, Havlík J. Chřipka. 2. vydání, Maxdorf Praha 2005: 175 s.
6. Cass LMR, et al. Pharmacoscintigraphic evaluation of lung deposition of inhaled zanamivir in healthy volunteers. *Clin Pharmacokinet* 1999; 36: 21–31.
7. Cataldo DM, Van Nest G. The adjuvants MF59 increases the immunogenicity and protective efficacy of subunit influenza vaccine in mice. *Vaccine* 1997; 15: 1710–1715.
8. Center for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention and control of influenza: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2007. *MMWR Recomm Rep* 2007; 56: 1–54.
9. Cox NJ, Subbarao K. Influenza. *Lancet* 1999; 354: 1277–1282.
10. Grilli G, et al. Simultaneous influenza and pneumococcal vaccination in elderly individuals. *Eur J Epidemiol* 1997; 13: 287–291.
11. Gross PA, et al. Immunization of elderly people with two doses of influenza vaccine. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 1763–1765.
12. Havlík J, Beran J. Chřipka. Klinický obraz, prevence a léčba. Maxdorf, 2002: 147 s.
13. Kilbourne ED, Arden NH. Inactivated influenza vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Saunders WB. *Vaccines* 1999; 531–551.
14. Koukolík F. O nemocech a lidech. Praha: Makropulos, 1998.
15. Negri E, et al. Influenza vaccine in healthy children: a meta-analysis. *Vaccine* 2005; 23: 2851–2861.
16. Newman SP, et al. Deposition pattern in the respiratory tract of the neuraminidase inhibitor zanamivir – a gamma scintigraphic study. In: *Abstracts of the 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Washington DC. American Society for Microbiology 1997; 237.
17. Parvin JD, et al. Measurement of the mutation rate of animal viruses: Influenza A virus and polio virus. *J. Virol.* 1986; 59: 377–383.
18. Van Essen GA, et al. Influenza vaccination in 2000: recommendations and vaccine use in 50 developed and rapidly developing countries. *Vaccine* 2003; 21: 1780–1785.
19. World Health Organisation (WHO). Influenza vaccines. *Wkly Epidemiol Rec* 2005; 80: 279–287.