

## Očkování proti chřipce - historie, současnost a budoucí trendy

### Chřipka

V lidské populaci cirkulují viry chřipky typu **A (H1N1, H3N2)**, **B** a **C**. **Chřipka A** je epidemiologicky nejzávažnější. Segmentovaný genom viru spolu s početným rezervoárem dalších subtypů typu A především v populaci migrujícího vodního ptactva je důvodem velké genetické nestability a proměnlivosti chřipkového viru jako takového, se všemi z toho plynoucími důsledky. Bylo opakovaně a exaktně doloženo, že pandemické kmeny z roku **1957 (H2N2 - Asijská chřipka)** a **1968 (H3N2 - Hongkongská chřipka)** vznikly vnesením genů ptačího viru do původně cirkulujícího lidského kmene. Oproti tomu se virus **Španělské chřipky** do lidské populace dostal velmi pravděpodobně přímo z ptačího zdroje již v roce **1916**. Teprve po dvou letech, během nichž se v Evropě objevovala ohniska onemocnění způsobená tímto virem (především ve vojenských leženích), se v roce **1918** v populaci masivně rozšířil se všemi dnes dobře zdokumentovanými následky. V téže roce (1918) se poprvé objevila chřipka u prasat, která se nakazila od nemocných osob. Subtypy **H5** a **H7** cirkulují v populaci vodní drůbeže a divokých ptáků především v jihovýchodní Asii, avšak i v Evropě v posledních deseti letech vyvolávaly příležitostně rozsáhlé epizootie a rovněž jsou schopny infikovat člověka. Subtyp **H5N1** poprvé způsobil lidské infekce v roce **1997** a od té doby představuje trvalou pandemickou hrozbu, ačkoliv ani po téměř patnácti letech výskytu jako příležitostného lidského patogenu nedošlo k jeho adaptaci a stále zůstává virem typicky ptačím. Klinické formy infekce způsobené tímto virem jsou zpravidla velmi vážné a ve více jak 50 % podchycených případů končila infekce **smrtelně**. Hlavní nebezpečí představuje reasortment lidského viru s virem ptačím, tj. výměna jednoho či několika segmentů virové RNA v genomu lidského kmene za segmenty ptačí. Důsledkem tohoto procesu je vznik nového subtypu, který se může šířit pandemicky kapénkovou infekcí z člověka na člověka.

**Chřipka typu B** představuje rovněž závažný patogen, nicméně na rozdíl od typu A **nemá pandemický potenciál**, protože postrádá trvalý přírodní rezervoár dalších subtypů. B chřipka v současné době existuje v podobě dvou antigeně výrazně odlišných linií (**B/Victoria** a **B/Yamagata**), které v populaci cirkulují víceméně zároveň, obvykle však s výraznou převahou pouze jedné z nich.

**Chřipka typu C** je především **infekcí dětského věku**, obvykle mírného průběhu, celkově připomínající spíše nachlazení než klasickou chřipku.

### Historie chřipkových vakcín

Chřipka je onemocnění **preventabilní** již více jak **60 let**. Krátce po objevu a izolaci viru v roce **1933** byl vyroben první prototyp vakcíny. Tato pionýrská práce nebyla primárně zaměřena na vývoj vakcíny, ale měla zodpovědět otázku, zda virus pomnožený v kuřecím embryu může infikovat člověka a zda po subkutánní aplikaci navodí ochranné protilátky (1). Tato studie byla provedena v roce **1936** s prvním chřipkovým izolátem - virem **A/PR 8/34**. Již v této době bylo zjištěno, že ochranné protilátky nastupují po dvou týdnech po aplikaci a přetrvávají více jak **6 měsíců**. Dalším významným krokem byl pokus provedený s filtrátem plic infikovaných myší, který po intramuskulární aplikaci navodil ochranné protilátky. Tyto první práce vedly k inaktivaci viru, která za pomoci formalínu byla poprvé provedena v roce **1937** (2, 3). Objev schopnosti chřipkového viru se navázat na červené krvinky (4) otevřel možnost prvním pokusům o koncentraci viru, což umožnilo přípravu účinnější (koncentrovanější) vakcíny pomocí adsorbce a následné eluce z červenýchrvinek. **První větší vakcinační pokusy** (řádově na stovkách dobrovolníků) byly provedeny v americké armádě během druhé světové války. Vedle chřipky typu **A** byl pro vývoj vakcíny použit i nově izolovaný virus typu **B (B/Lee/40)**. V roce **1945** byla v USA licencována první chřipková inaktivovaná vakcína. Tyto vakcíny byly samozřejmě celovirionové, a proto značně reaktogenní. V roce **1964** byla připravena první štěpená vakcína a její aplikace přinesla i poznatek, že je uspokojivě imunogenní, ale podstatně méně reaktogenní než vakcína celovirionová. V roce **1966** bylo dalším průlomovým okamžikem zavedení zonální centrifugace a v roce **1976** byla připravena první vakcína **subjednotková**, která obsahuje pouze povrchové antigeny hemagglutinin

a neuraminidázu. Nicméně vzhledem k faktu, že vstupní branou infekce je respirační trakt, byla od šedesátých let věnována pozornost i vývoji živé atenuované vakcíny intranasální. Základem je tzv. chladová varianta, čili kmen chřipkového viru, který je postupně adaptován tak, aby se byl schopen replikovat při teplotě **25°C**. Atenuovaný virus se následně projevuje jako avirulentní, je-li jím infikován člověk. Do základního atenuovaného kmene je insertován hemagglutinin a neuraminidáza divokého vakcinálního kmene, a to **opakovaným pasážírováním** obou kmenů při teplotě **25°C** za přítomnosti specifického séra proti hemagglutininu a neuraminidáze donorského kmene. Intranasální atenuovanou vakcínu je možné použít pro **děti starší 2 let** a u **osob až do 49 let věku**. U starších osob je **méně účinná**, u dětí **mladších 2 let** se vyskytly některé lokální nežádoucí účinky. **V ČR se tento typ vakcíny nepoužívá a není ani registrován.**

### **Současnost a budoucí trendy chřipkových vakcín**

Membránové proteiny mohou být rekonstituovány se syntetickými či přírodními lipidy do prázdného virového obalu - to je princip tzv. virosomů a virosomálních vakcín. Pro zesílení imunitní odpovědi na antigen ve vakcíně lze použít adjuvantní prostředek, který může tvořit komponentu očkovací látky. Adjuvans také v některých případech umožňuje použití menšího množství antigenu. Adjuvantní prostředek lze dále rozdělit na látky s depotním účinkem a na imunomodulátory. Protichřipková vakcína je dlouhodobě a tradičně vyráběna **na kuřecích zárodcích**. Výhodou této technologie je právě její tradice a dokonalá znalost přípravy, nicméně tento systém postrádá do určité míry pružnost, kterou si nepochybně vyžádalo rychlé zvýšení produkce v době pandemického ohrožení. Tyto a v neposlední řadě i ekonomické pohnutky vedly k tomu, že pro výrobu protichřipkové vakcíny začaly být **využívány i savčí tkáňové kultury**. Lidské případy infekce **H5N1** a víceméně stálá hrozba vzniku pandemického kmene byla a stále je vážným důvodem pro další vývoj protichřipkových vakcín. Vedle množení virů chřipky v kuřecích embryích začaly být používány savčí tkáňové kultury - z výrobního hlediska se **jedná o pružný systém**, kde lze v závislosti na poptávce zvýšit poměrně rychle produkci, o něco jednodušší je i příprava vakcinálního kmene. Velikou výhodou tohoto typu vakcín je i možnost použít je u osob alergických, především alergických na vaječnou bílkovinu. Virus množný v savčích buňkách je také lépe adaptován na lidské podmínky. Pro účely přípravy protichřipkové vakcíny jsou používány buňky **MDCK (Madin Darby Canine Kidney)**, **VERO buňky (Afričan Green Monkey Kidney)** a **PER. C6 linie (buňky z lidské fetální sítnice)**. Vakcíny připravené na MDCK buňkách a VERO buňkách **jsou v ČR registrovány** a minimálně jedna vakcína připravená na tkáňových kulturách je již k dispozici na trhu. Předpokládá se, že vakcína připravovaná na buňkách PER. C6 by měla být k dispozici v roce **2014** (5). Jedním ze „staronových“ a v praxi již využívaných trendů je intradermální aplikace, jejíž velkou výhodou je maximální využití antigen prezentujících buněk, což nitrosvalová aplikace do určité míry obchází. V blízké budoucnosti se předpokládá i použití čtyřvalentní vakcíny, která bude obsahovat dva kmény **A** (např. **H1N1** a **H3N2**) a dva kmény **B**, které budou reprezentovat obě antigenní linie. Bohužel během posledních 10 let právě predikce chřipkového viru B několikrát selhala, což vedlo ke **snížení efektivity** trivalentní vakcíny. Další možnosti přípravy chřipkové vakcíny jsou doposud v experimentální rovině. Pravděpodobně nejsledovanější je tzv. univerzální vakcína (6, 7), kdy se využívá některých konzervativních antigenních míst - především **M2 protein** či na **HA2**, který je mnohem stabilnější než část **HA1**. Nukleoprotein **NP** a **MI** protein nenavozují velkou protilátkovou odezvu, hrají však významnou roli v celulární imunitě. Podobný typ vakcíny by mohl velmi **prospět pandemické připravenosti** a určitě by zjednodušil i pravidelnou vakcinaci proti chřipce. Rekombinantní proteinové vakcíny jsou založeny na principu klonování vhodného genu zpravidla v bakulovirovém vektoru, čímž lze následně získat poměrně velké množství žádaného antigenu (8). Peptidové vakcíny využívají syntézy peptidů představujících určité konkrétní epitopy, které stimulují humorální i buněčnou imunitu. V případě chřipkového viru jsou experimentálně využívány některé epitopy **M2 proteinu** (8). **Rekombinantní DNA** vakcíny jsou považovány za velmi atraktivní imunizační strategii. DNA vakcíny jsou bakteriální plazmidy, do kterých je včleněn gen kódující antigen, proti kterému má být navozena protekce. Hostitelské buňky jsou schopny přijmout cizí DNA, která kóduje příslušnou antigenní determinantu infekčního agens, a pak produkuje danou bílkovinu. Cizorodou DNA velmi snadno přijímají myocyty. DNA vakcína byla poprvé popsána a experimentálně konstruována právě pro virus chřipky, bylo již testováno více jak **11 proteinů** (8). Rekombinantní virové vektory fungují na podobné bázi jako DNA vakcíny (8).

V České republice **jsou registrovány** následující inaktivované trivalentní **očkovací látky** proti chřipce:

1. **Begrivac (Novartis)** - štěpená vakcína
2. **Fluad (Novartis)** - subjednotková adjuvantní vakcína
3. **Fluarix (GlaxoSmithKline)** - štěpená vakcína
4. **IDflu9 a IDflu5 (Sanofi Pasteur)** - štěpená intradermální vakcína
5. **Influvac (Abbott)** - subjednotková vakcína
6. **Vaxigrip (Sanofi Pasteur)** - štěpená vakcína
7. **Optaflu (Novartis)** - subjednotková vakcína připravená na buněčných kulturách
8. **Preflucel (Baxter)** - štěpená vakcína připravená na buněčných kulturách

Uvedený přehled registrovaných vakcín pochopitelně **nezaručuje**, že se všechny uvedené očkovací látky v aktuální sezóně **dováží do ČR**.

## **Závěr**

Podle **WHO** chřipka každoročně postihne až **10-20 %** obyvatelstva, několik milionů nemocných má těžký průběh infekce a zhruba **500 000** osob infekci **podlehne**. Genetická nestabilita humánních chřipkových virů typu **A**, jejich průběžné mutace a možný reassortment s ptačími subtypy vyžaduje trvalou epidemiologickou surveillance na celosvětové úrovni. **Podpora preventivního očkování je efektivním řešením**, které přispívá k limitaci důsledků epidemií i pandemií. **Jeho podpora v ČR je více než namístě.**

## **Literatura**

1. Francis T, Magill TP. The incidence of neutralizing antibodies for human influenza virus in the sérum of human individuals of different age. J Exp Med. 1936;63:655-8.
2. Stokes J, Chenoweth AD, Waltz AD, Gladen RG, Shaw D. Results of immunization by means of active virus of human influenza. J Clin Invest. 1937;16:237-43.
3. Stokes J, McGuinness AC, Langner PH, Shaw D. Vaccination against epidemie influenza with active virus of human influenza. Am J Med Sci. 1937;194:757-68.
4. Hirst GK. Agglutination of red cells by allantoic fluid of chick embryos infected with influenza virus. Science. 1941;94:22-3.
5. Zuccotti GV, Fabiano V. Strategie for preventing influenza: future perspectives in influenza vaccine technology. Expert Opin BiolTher. 2011;11(1):1-4.
6. Li OT, Poon LL. One step closer to universal influenza epitopes. Expert Rev Anti Infect Ther. 2009;7(6):687-90.
7. Staneková Z, Vařečková E. Conserved epitopes of influenza A virus inducing protective immunity and their prospects for universal vaccine development. Virology Journal. 2010. Available from: <http://www.virologyj.com/content/7/1/35>
8. Tripp RA, Tompkins SM. Recombinant vaccines for influenza virus. Current Opinion in Investigational Druha. 2008;837-45.
9. Pulendran B, et al. Crossroads Between Innate and Adaptive Immunity III, Advances in Experimental Medicině and Biology 780, Chapter 13: Influenza Vaccines: What Do We Want and How Can We Get It? SpringerScience+Business Media 2011;161-74.

## **MUDr. Martina Havlíčková, CSc.**

Národní referenční laboratoř pro chřipku  
e-mail: nflucprg@szu.cz  
tel: 267 082 402  
Šrobárova 48 100 42  
Praha 10