

Univerzita Karlova

3. lékařská fakulta

Studijní program: Preventivní medicína a epidemiologie



MUDr. Roman Máčalík

Zhodnocení bezpečnosti očkování proti onemocnění COVID-19

Evaluation of COVID-19 vaccinations' safety

Školitel: doc. RNDr. Marek Petráš, Ph.D.

Praha, 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci vypracoval samostatně a použil výhradně uvedené citované prameny, literaturu a další odborné zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby má závěrečná práce byla používána ke studijním účelům.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému Theses.cz a Turnitin za účelem soustavné kontroly podobnosti závěrečných prací.

V Praze dne 7. března 2024

Roman Máčalík
podpis

Identifikační záznam:

MÁČALÍK, Roman. *Zhodnocení bezpečnosti očkování proti onemocnění COVID-19. [Evaluation of COVID-19 vaccinations' safety]*. Praha, 2024. Počet stran 68, počet příloh 3. Disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta, Ústav epidemiologie a biostatistiky 3. LF UK. Školitel doc. RNDr. Marek Petráš, Ph.D.

Klíčová slova: (v ČJ a AJ)

Genetické vakcíny, mRNA-vakcíny, očkování, COVID-19, pandemie, bezpečnost, SARS-CoV-2, AAA1, apolipoprotein A-1, obezita, BMI

Genetic vaccines, mRNA vaccines, vaccination, COVID-19, pandemic, safety, SARS-CoV-2, AAA1, apolipoprotein A-1, obesity, BMI

Poděkování

V první řadě bych rád na tomto místě poděkoval svému školiteli doc. RNDr. Marku Petrášovi, Ph.D., za cenné rady, trpělivost, odborné vedení a konzultace v průběhu mého postgraduálního studia.

Současně bych chtěl poděkovat příslušníkům 24. základny dopravního letectva v Praze-Kbelích, řediteli Ústavu leteckého zdravotnictví Praha MUDr. Petru Chmátalovi, Ph.D., MBA, vrchní sestře Ústavu leteckého zdravotnictví Praha Martině Suché a zdravotnickému týmu Centra zdravotních služeb AČR v Praze-Kbelích za jejich spolupráci během praktické části této studie, bez které by tato práce nevznikla.

Velké poděkování patří také mé rodině za trvalou podporu a motivaci.

OBSAH

1. SEZNAM ZKRATEK	8
2. ÚVOD	9
2.1. ONEMOCNĚNÍ COVID-19	10
2.2. IMUNIZACE, VAKCÍN	12
2.3. IMPLEMENTACE OČKOVÁNÍ PROTI COVID-19	15
3. CÍL STUDIE.....	17
4. METODY	18
4.1. USPOŘÁDÁNÍ STUDIE.....	18
4.2. STUDIJNÍ POPULACE	19
4.3. MĚŘENÍ VE STUDII.....	19
4.4. STATISTIKA	21
5. VÝSLEDKY	23
5.1. DEMOGRAFIE	23
5.2. STUDIJNÍ COMPLIANCE	24
5.3. NEŽÁDOUCÍ PŘÍHODY	27
5.4. HEMATOLOGIE	30
5.5. AUTOPROTILÁTKY	38
5.6. SÉROLOGIE IGG ANTI-S.....	43
5.7. PRŮLOMOVÉ INFEKCE	46
6. DISKUZE	47
7. ZÁVĚR	53
8. SOUHRN/SUMMARY	54
9. SEZNAM TABULEK.....	56
10. SEZNAM GRAFŮ.....	57
11. LITERATURA.....	58
12. PŘÍLOHY.....	68

1. SEZNAM ZKRATEK

AAA1	protilátky proti apolipoproteinu A-1
ACE2	angiotenzin-konvertující enzym 2
ANA	antinukleární protilátky
ANCA	antineutrofilní cytoplazmatické protilátky
aOR	adjustovaný poměr šancí
ApoA1	apolipoprotein A-1
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome / syndrom akutní dechové tísně
BMI	Body Mass Index
BNT162b2	mRNA-vakcína výrobce Pfizer-BioNTech
CI	interval spolehlivosti
cOR	hrubý poměr šancí
COVID-19	coronavirus disease 2019
ECMO	extrakorporální membránová oxygenace
GMC	geometrický průměr koncentrací
IQR	interkvartilové rozpětí
MERS	Middle East Respiratory Syndrome
MERS-CoV	Middle East Respiratory Syndrome – related CoronaVirus
MODS	Multiple Organ Dysfunction Syndrome / syndrom mnohočetného orgánového selhání
mRNA	messengerová ribonukleová kyselina
mRNA-1273	mRNA-vakcína výrobce Moderna
RT-PCR	polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí
SARS	Severe Acute Respiratory Syndrome
SARS-CoV	Severe Acute Respiratory Syndrome – related CoronaVirus
SD	směrodatná odchylka
V	visit/návštěva
WHO	World Health Organization / Světová zdravotnická organizace

2. ÚVOD

COVID-19 (z anglického *coronavirus disease 2019*) je vysoce infekční virové onemocnění způsobené koronavirem SARS-CoV-2. Toto onemocnění se poprvé objevilo na konci roku 2019 v Číně ve městě Wu-chanu a během krátké doby se masově rozšířilo po celém světě. Dne 30. ledna 2020 vyhlásila Světová zdravotnická organizace (WHO) globální stav nouze a 11. března 2020 byla nákaza koronavirem SARS-CoV-2 označena za pandemii. Díky zlepšující se celosvětové situaci týkající se COVID-19 ukončila WHO globální stav nouze dne 5. května 2023, pandemie však přetrvává dál.

Podle definice WHO je pandemie charakterizována šířením pandemického viru v komunitách v alespoň dvou zemích jednoho regionu WHO a alespoň v jedné zemi z dalšího regionu WHO.¹

Do konce listopadu 2023 bylo ve světě potvrzeno přes 656,6 milionu případů nákazy, včetně 6,88 milionu úmrtí spojených s tímto virovým onemocněním, a aplikováno přes 13,3 miliardy dávek vakcín proti koronaviru SARS-CoV-2.² Za stejné období bylo v České republice potvrzeno přes 4,67 milionu případů covidové nákazy (včetně reinfekcí) zahrnujících přes 42 tisíc úmrtí v souvislosti s touto nákazou a aplikováno přes 19,5 milionu dávek vakcín (včetně očkování posilujícími dávkami).^{2, 3} Reálná čísla budou zřejmě vyšší, protože řada covidových nákaz či úmrtí nebyla oficiálně zaznamenána.

Virus se šíří vzájemným kontaktem pomocí kapének a aerosolu nebo tělesným kontaktem. Tato nemoc postihuje především respirační systém, její průběh může být asymptomatický až zvláště těžký, spojený s rozsáhlým zasažením plic či komplikovaný selháním dalších orgánů.

U většiny neočkovaných pacientů, kteří prodělali onemocnění COVID-19, přetrvávají specifické protilátky po dobu alespoň deseti měsíců.^{4, 5} Nicméně je třeba vzít v úvahu, že průběh onemocnění je velmi individuální a záleží také na věku, celkovém zdravotním stavu a rizikových návycích jednotlivce. Obzvláště důležité je proto u rizikového pacienta aktivovat imunitní systém pomocí očkování a takto navodit obranyschopnost proti této nemoci.

Vzhledem k závažnosti celosvětové situace a rychlému šíření nové varianty koronaviru bylo potřeba rychle vyvinout vakcínu, která by pomohla snížit riziko nákazy. Po celém světě se rozběhl vývoj různých typů očkovacích látek, včetně genetických, tzv. mRNA-vakcín, které jsou v dnešní době v naší zemi nejrozšířenější, podobně jako je tomu v dalších zemích Evropy nebo Severní Ameriky.

Technologie mRNA je sice nová, ale není neznámá. Jejímu vývoji se výzkum věnuje už přibližně 30 let.⁶ Přesto použití těchto vakcín v praxi bylo do vypuknutí pandemie COVID-19 jen ve fázi klinického testování. Proto jsme provedli tuto studii, která měla na základě zjištěných údajů přispět k hodnocení bezpečnosti očkování proti COVID-19 s mRNA-vakcínami. Studie byla vedena jako prospektivní kohortová, v jejím rámci se ověřovaly nejenom hladiny IgG-protilátek specifických proti spike proteinu SARS-CoV-2 po vakcinaci, ale souběžně se hodnotily také hematologické parametry, některé ukazatele autoimunitních onemocnění a zaznamenávaly se nežádoucí příhody, včetně průlomových infekcí v průběhu celé studie.

Studie pod označením COVAC-BLOOD byla prováděna podle předem připraveného protokolu a data byla získávána od dubna 2021 do května 2022. Sérologická vyšetření byla provedena po ukončení sběru krevních vzorků.

2.1. Onemocnění COVID-19

Koronaviry mohou způsobovat běžné a nekomplikované akutní infekce horních nebo dolních dýchacích cest. Koncem roku 2019 byla ale v Číně hlášena řada případů nového akutního a závažného respiračního onemocnění dolních cest dýchacích nejasné etiologie. Tyto případy ukazovaly spojitost s tržištěm ve městě Wu-chanu, na kterém se mimo jiné prodávala živá zvířata. Virus byl později identifikován a pojmenován jako koronavirus těžkého akutního respiračního syndromu (Severe Acute Respiratory Syndrome – related CoronaVirus / SARS-CoV-2) a nemoc, kterou způsobuje, byla označena jako COVID-19.

Koronaviry tvoří velkou rodinu virů, které jsou běžné u lidí i u mnoha různých druhů zvířat. Rozdělují se do čtyř rodů: α -, β -, γ -, δ -koronaviry. První dva zmíněné rody infikují výhradně savce a zbylé dva rody mohou infikovat savce i ptáky.⁷

Původcem nemoci COVID-19 je obalený RNA-virus s pozitivní polaritou, patřící do rodu betakoronavirů, čeledi Coronaviridae. Podrobnou analýzou bylo zjištěno, že se jedná o stejný druh jako SARS-CoV způsobující nemoc SARS, objevený v roce 2002, který byl pomocí přísných karanténních opatření v té době eliminován. Rozdíl mezi těmito dvěma viry je na úrovni některých virových proteinů, které jsou schopny potlačit antivirovou imunitu.⁸ Dalším podobným zástupcem z rodu betakoronavirů je MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome – related CoronaVirus) způsobující závažné onemocnění MERS, který byl objeven v roce 2012.⁹

Virus SARS-CoV-2 je složen ze čtyř strukturálních proteinů, které zahrnují povrchový spike protein (S), membránový protein (M), obálkový (envelope) protein (E) a nukleokapsidový protein (N). Součástí virionu jsou další nestrukturální a akcesorní proteiny. Nejdůležitější roli při vazbě na hostitelskou buňku hraje povrchový spike protein.¹⁰

Spike protein (S-protein), membránový glykoprotein tvořící na povrchu koronaviru hroty, je důležitý pro infekci a patogenezi.¹¹ Jeho klíčovou úlohou je zajistit připojení viru k buněčné membráně, a vstoupit tak do cílové buňky.¹¹ Receptorem pro SARS-CoV-2 je angiotensin-konvertující enzym 2 (ACE2), což je enzym na povrchu buněk přispívající ke kontrole krevního tlaku.¹² Právě interakcí S-proteinu s ACE2-receptorem je podmíněn vstup viru do buňky.¹¹ Dochází pak ke splynutí virového obalu s buněčnou membránou, čímž se zároveň usnadňuje vstup virové RNA do buňky.^{10, 11} Poté je virová nukleokapsida uvolněna do cytoplazmy, a tak RNA zůstává před transkripcí neobalena. Následuje tvorba proteinů a virové RNA, které jsou transportovány a shromažďovány v endoplazmatickém retikulu a Golgiho aparátu. Nové viriony jsou poté uvolněny exocytózou.^{7, 12}

Protein N pomáhá při vazbě genomu virové RNA a zároveň udržuje stabilitu RNA. Protein E hraje důležitou roli při uvolňování viru a také při jeho sestavování během patogeneze.⁷ Protein M je zodpovědný za transport živin přes membránu a formuje virovou částici.¹¹

ACE2 je exprimován na různých typech buněk plic, včetně alveolárních a epitelálních buněk a pneumocytů, a také na enterocytech, myokardiálních buňkách či na buňkách proximálního tubulu ledvin.^{13, 12}

Rozsah inkubační doby, během níž se může nemoc dále šířit, je dva až 14 dní, přičemž u varianty Omikron může tato doba trvat jen tři až čtyři dny.¹⁴ SARS-CoV-2 se může vyskytovat na sliznicích v krku nebo nose několik dní před nástupem příznaků. Zcela asymptomatický jedinec může mít podobnou virovou nálož jako pacient s příznaky.^{15, 16}

Infikovaný jedinec může být zcela bez příznaků, případně se u něj mohou objevit symptomy různé závažnosti. Bez ohledu na věk může této nemoci podlehnout kdokoli v závislosti na jeho celkovém zdravotním stavu, přičemž mezi nejrizikovější komorbidity patří kardiovaskulární onemocnění, poškození ledvin, dysfunkce jater, diabetes mellitus či

onkologická onemocnění.¹¹ Úmrtnost se zvyšuje s věkem, zejména u pacientů nad 80 let.¹⁵ Onemocnění u novorozenců, kojenců a dětí probíhá výrazně mírněji než u dospělých jedinců.¹⁵ Zdraví jedinci se mohou z nemoci zotavit během dvou až čtyř týdnů.¹¹

Během vývoje variant SARS-CoV-2, hlavně s nástupem varianty Omikron, se změnily i dominující příznaky. V období variant pre-Omikron se častěji vyskytovaly příznaky typu horečky, ztráty či zhoršení čichu a přetrvávajícího kašle, zatímco bolest v krku nebo chrapot je častější pro variantu Omikron. Další příznaky, např. bolesti očí a hlavy, bolesti svalů a kloubů, závratě či kýchání, se častěji vyskytovaly v období před nástupem variant Omikron. Také se u nich liší doba trvání nemoci, přetrvávající v průměru devět dní, zatímco u variant Omikronu bývá průměrná doba kratší sedmi dní.¹⁷ Dalšími příznaky, jež mohou být společné pro všechny varianty SARS-CoV-2, jsou zápal plic a dušnost. U pacientů se středně závažným průběhem bývají přítomné radiologicky prokázané zánětlivé změny v plicním parenchymu.¹¹ Vzhledem k tomu, že je receptor ACE2 exprimován nejenom v plicích, ale také např. v srdci, endotelu, renálním tubulárním či střevním epitelu, může dojít k napadení těchto orgánů koronavirem SARS-CoV-2 a k jejich následnému poškození s rizikem rozvoje syndromu multiorgánové dysfunkce (MODS). V závažných případech se může také rozvinout septický šok, metabolická acidóza, koagulační dysfunkce nebo pneumonie se syndromem akutní dechové tísně (ARDS), vyžadující umělou plicní ventilaci či extrakorporální membránovou oxygenaci (ECMO). Tato progresse je spojena s extrémním nárůstem zánětlivých cytokinů, včetně IL-2, IL-7, IL-10, G-CSF, IP-10, MCP-1, MIP1a a TNF α . Mezi další komplikace patří myokarditida či kardiální postižení.^{11, 15, 16}

Některé koronaviry infikující zvířata mohou zmutovat a adaptovat se, což může vést až ke vzniku nového lidského koronaviru. SARS-CoV-2 je s vysokou pravděpodobností zoonotického původu, i když jeho přesný původ a vznik nebyly zatím jednoznačně objasněny. U zoonotických infekcí se často objevují závažnější příznaky při postižení dýchacího traktu, což lze pozorovat nejenom u současné nemoci COVID-19, ale také u předešlých virových variant SARS-CoV nebo MERS-CoV. Přenos ze zvířete na člověka byl dokumentován u jiných vysoce patogenních koronavirů, zatímco u SARS-CoV-2 byl navíc potvrzen také přenos z člověka na zvíře. Vzhledem k tomu, že se koronaviry mohou snadno přizpůsobit svému hostiteli, stát se tak infekčnějšími a rekombinovat se se zvířecím koronavirem za vzniku nového koronaviru s pandemickým potenciálem, vyvolal tento mezidruhový přenos značné obavy.¹⁸

Hlavním zdrojem viru je infikovaný člověk. K nákaze jsou náchylné všechny osoby nezávisle na věku, pohlaví či etnickém původu. Přenos infekce je možný inhalací aerosolu, kapénkami nebo při kontaktu s nosními, ústními či očními slizničními sekrety infikovaného pacienta. Při kašli nebo kýchání se mohou kapénky šířit do vzdálenosti až dvou metrů, přičemž mohou poté ulpět na povrchích různých předmětů, na kterých může virus zůstat aktivní po dobu několika hodin až dní, např. na plastech nebo na nerezové oceli byl životaschopný virus detekován po dobu 72 hodin.¹⁹

K přenosu infekce může dojít i při inaparentním průběhu onemocnění nebo před manifestací. Horizontální přenos byl popsán u tzv. superspreaders (superpřenašečů) s inaparentní infekcí, kteří jsou schopni dále nakazit velké množství osob obzvláště díky společenským kontaktům v době, kdy vylučují virus.¹⁶ Virová RNA je v nosohltanu detekovatelná i po klinickém zotavení až po dobu několika dnů či týdnů. Virus byl detekován i ve stolici pacientů.¹⁶ Riziko vertikálního přenosu v těhotenství na novorozence je velmi nízké.²⁰

Dosud bylo popsáno několik významných variant nového typu koronaviru, které jsou pojmenovávány podle řecké abecedy, např. britská varianta ze září roku 2020 byla pojmenována Alfa, indická varianta z prosince 2020 Delta (tabulka 1).

Tabulka 1: SARS-CoV-2 – varianty, země a data první detekce²¹

Varianta	Země prvního zachytu	Datum první detekce
D614G	Evropa	únor 2020
Alfa (B.1.1.7)	Velká Británie	září 2020
Beta (B.1.351)	Jihoafrická republika	září 2020
Gama (P.1)	Brazílie	prosinec 2020
Delta (B.1.617.2)	Indie	říjen 2020
Epsilon	USA	březen 2020
Éta	nespecifikováno	prosinec 2020
Théta	Filipíny	leden 2021
Ióta	USA	listopad 2020
Kappa	Indie	říjen 2020
Lambda	Peru	prosinec 2020
Mí	Kolumbie, Ekvádor	leden 2021
Omikron (B.1.1.529)	Botswana, Jihoafrická republika	listopad 2021

Důležitým ukazatelem šíření nákazy je tzv. základní reprodukční číslo R_0 , což je míra odrážející rychlost přenosu onemocnění. Liší se v jednotlivých časových obdobích a je také výrazně ovlivněno celou řadou faktorů, včetně zdravotních opatření v dané populaci.^{10, 22}

Zpočátku byly případy související se SARS-CoV-2 spojeny s relativně vysokou smrtností, zejména u lidí s chronickým onemocněním, jako jsou např. diabetes mellitus nebo kardiovaskulární onemocnění. Počet případů SARS-CoV-2 se rychle zvyšoval, částečně kvůli vysoké míře nakažlivosti, stejně jako z důvodu nedostatečné informovanosti a dostupnosti diagnostických souprav v počátečních fázích pandemie.^{18, 15}

Laboratorní diagnostika je založena na PCR, což je metoda kvantitativní polymerázové řetězové reakce (RT-PCR) využívající vzorky výtěrů ze zadní části nosohltanu a je považována za zlatý standard v rámci diagnostiky SARS-CoV-2.²³

Antigenní testy slouží k rychlému a snadnému zjištění přítomnosti virového antigenu ve vzorku, kterým může být výtěr z nosohltanu, z nosu nebo malé množství slin. Úspěšnost těchto testů však do značné míry závisí na stadiu onemocnění a na virové náloži.²⁴

2.2. Imunizace, vakcíny

Přirozeně získaná imunita

Pacienti, kteří se zotaví z onemocnění COVID-19, mají zřejmě silnou imunitní paměť. Imunita proti SARS-CoV-2 může přetrvávat až 18 měsíců od infekce.²⁵ Tuto paměť tvoří jak humorální, tak buněčná imunita zahrnující T- a B-lymfocyty. Hladina protilátek postupně klesá, zatímco T- a B-lymfocyty setrvávají déle.²⁶

Hladiny T-lymfocytů specifických proti koronaviru mezi 4.–6. měsícem mírně klesnou, zatímco hladiny B-lymfocytů se zvyšují až do 6. měsíce od nákazy.²⁶ Protilátky šest měsíců po onemocnění mírně klesají.²⁵ Předpokládá se, že T- a B-lymfocyty proti SARS-CoV-2 by mohly vydržet roky vzhledem k pomalé rychlosti jejich poklesu, stejně jako dlouhodobě přetrvávající lymfocyty přirozeně stimulované původní infekcí virem SARS-CoV, který sdílí 82 % genomu se SARS-CoV-2.^{26, 27}

Vakcíny

Primárními cíli vývoje každé vakcíny jsou bezpečnost a účinnost. Pandemie COVID-19 s sebou přinesla akceleraci vývoje vakcín, které se vyvíjejí několik let až desítek let, což vedlo ke zkrácení této doby na méně než jeden rok.²⁸

Vzhledem k omezeným poznatkům o novém typu viru a o povaze imunitní odpovědi na počátku pandemie nebylo jisté, že strategie vývoje vakcíny bude úspěšná. Nemoci MERS a SARS však napomohly pochopit, jak lidské tělo reaguje na koronaviry.²⁹ Proto byly pro vývoj vakcíny proti COVID-19 využity různé technologické platformy zahrnující vakcíny na bázi mRNA, vektorové, subjednotkové nebo inaktivované.³⁰ V Evropě byly k dispozici pouze čtyři komerční vakcíny – dvě na bázi mRNA a dvě adenovirové, přičemž dominovaly mRNA-vakcíny – mRNA-1273 a BNT162b2.

Genetické vakcíny stimulují imunitní systém pomocí messengerové ribonukleové kyseliny (mRNA), která je do buněk transportována pomocí lipidových nanočástic, které chrání RNA před degradací. V buněčné cytoplazmě probíhá na ribozomech translace mRNA do antigenního proteinu (např. S-proteinu), který je pak exprimován na povrchu hostitelské buňky.³¹

mRNA-vakcíny musejí být exprimovány in situ tak, aby vyvolaly antigen-specifickou imunitní odpověď. K optimalizaci vakcíny je proto důležité znát rozsah a délku trvání exprese antigenu po aplikaci mRNA.³² Nemodifikovaná mRNA indukuje expresi proteinu in vivo 12–24 hodin po intramuskulárním podání a trvá alespoň šest dní.³³ Kinetika a velikost translace mohou být ovlivněny formulací mRNA, způsobem podání, modifikacemi a optimalizací sekvence nukleosidů.³²

Použití mRNA-vakcín má oproti tradičním vakcínám, jako jsou živé a inaktivované celovirové či subjednotkové vakcíny, několik výhod, které zahrnují hlavně bezpečnost, účinnost, všestrannost a rychlou přípravu.³⁴ Z pohledu bezpečnosti jsou genetické vakcíny neinfekční a neintegrující platformou, která nepředstavuje žádné potenciální riziko infekce nebo inserční mutagenese.^{34, 32} Na účinnosti se podílejí nukleosidové modifikace, které mohou výrazně zlepšit stabilitu mRNA a její translační kapacitu. Lipidové nanočástice se ukázaly jako účinný nosič pro transport mRNA in vivo, což umožňuje jejich rychlý vstup do buňky a následnou expresi cílového antigenu na buněčném povrchu. Díky tomu imunitní systém dostává možnost stimulovat robustní adaptivní humorální a buněčnou odpověď. Vývoj mRNA-vakcíny se získanými informacemi o genové sekvenci trvá jen několik dní. Platforma je vysoce univerzální a použitelná pro jakékoli další proteiny.³²

Aplikace mRNA-vakcíny podle základního očkovacího schématu se provádí intramuskulárně do deltového svalu ve dvou dávkách.³⁵ Při zahájení očkování na jaře 2021 došlo k prodloužení původně doporučeného intervalu mezi první a druhou dávkou mRNA-vakcíny z 21 na 42 dní, a to z důvodu všeobecného nedostatku očkovacích látek.³⁶ Úskalím těchto nových vakcín byla hlavně nutnost dlouhodobého skladování při teplotách až -80 °C. Po rozmražení mohou být skladovány při teplotách 2 °C až 8 °C po dobu 30 dní.³⁷

Bezpečnost

Nové mRNA-vakcíny mohou způsobit lokální i systémové nežádoucí účinky nezávisle na počtu podaných dávek. Pozorovanými lokálními účinky byly zejména bolest ramene, zarudnutí či otok v místě vpichu. Systémové reakce zahrnovaly častěji horečku, únavu, bolest hlavy, nevolnost, zvracení, svědění, zimnici, myalgie, lymfadenopatie, bolesti kloubů a vzácně také anafylaktický šok.³⁷

Byly hlášeny i méně často se vyskytující systémové reakce, jako jsou bolesti břicha, diaree, pyróza, zácpa, intolerance jídla, ospalost, stres, zhoršení paměti, deprese, zhoršení koncentrace, otupělost, mdloby, bolest v krku, rýma, bolesti očí nebo uší, rozmazané vidění, zvonění v uších, intolerance chladu či tepla, palpitace, bolest na hrudi, kašel, atopický ekzém a jiné.³⁸

Také byly popsány závažné nežádoucí příhody, mezi které patří Guillain-Barrého syndrom nebo kardiovaskulární příhody, zahrnující hlavně myokarditidu. Ta byla zaznamenána především u mladých mužů častěji po druhé dávce očkování vakcínou BNT162b2.^{39, 40} Některé studie popisují zvýšené riziko hemoragické či ischemické mozkové příhody ve srovnání s neočkovanými pacienty^{41, 42}, přičemž zvýšené riziko hemoragické mrtvice spojené s BNT162b2 bylo z nejasných důvodů významné pouze u žen.⁴¹ Některé další studie z Francie⁴³, Izraele⁴⁴ či USA⁴⁵ však nenalezly žádnou významnou asociaci mezi očkováním vakcínou BNT162b2 a hemoragickou nebo ischemickou cévní mozkovou příhodou, infarktem myokardu nebo srdeční arytmií.

Z důvodu nárůstu počtu případů pásového oparu byla provedena populační observační studie v Hongkongu, podle které se po podání první nebo druhé dávky vakcíny BNT162b2 pětinašobně zvýšilo riziko herpes zoster (sedm případů na milion podaných dávek) oproti neočkované kontrolní skupině.^{40, 46} Naopak studie z USA⁴⁷ nebo z Izraele⁴⁸ nepotvrdily vztah mezi pásovým oparem a mRNA-vakcínou.

Mortalita je dalším spolehlivým ukazatelem bezpečnosti vakcíny. Jedna studie z Dánska uvádí snížené riziko srdeční zástavy nebo úmrtí u jedinců očkových BNT162b2 ve srovnání s neočkovanými.⁴⁹ Studie z Velké Británie dokonce zjistila snížení rizika úmrtí mezi očkovánými BNT162b2 ve věku <70 a ≥70 let v porovnání s neočkovanými jedinci.⁵⁰ Jiná studie odhalila snížení rizika úmrtí u očkových oproti neočkovaným jedincům, ale současně připouští působení tzv. efektu zdravého očkování, kdy očkové osoby bývají obecně „zdravější“ než osoby neočkované.⁵¹

Postvakcinační odpověď, účinnost

Po aplikaci mRNA-vakcíny vstupuje mRNA do buněk endocytózou a po uvolnění z endozomu je translatována ribozomy na proteiny, které mohou aktivovat imunitní systém dvěma způsoby. Proteiny mohou být degradovány proteazomem na peptidy následně prezentovány jako antigeny na buněčném povrchu hlavním histokompatibilním komplexem třídy I, které se vážou na T-buněčný receptor, čímž aktivují CD8+ T-lymfocyty určené k eliminaci infikovaných buněk. Druhou možností je zachycení extracelulárně vyloučených proteinů antigen-prezentujícími buňkami, které je dále degradují na peptidy a následně prezentují na buněčném povrchu pomocí hlavního histokompatibilního komplexu třídy II. V důsledku toho jsou pak rozpoznány CD4+ T-lymfocyty, což vede jak k aktivaci buněčné imunitní odpovědi sekrecí cytokinů, tak také k aktivaci humorální imunitní odpovědi zprostředkované protilátkami indukovanými B-lymfocyty.⁵²

Hladiny postvakcinačních IgG-protilátek specifických proti spike proteinu SARS-CoV-2 exponenciálně rostou a ustálí se přibližně za 18–21 dní po podání první dávky mRNA-vakcíny. Po druhé dávce se hladiny těchto IgG-protilátek dále zvýší a svého maxima dosáhnou přibližně o sedm dní později a zůstanou zvýšené na úrovni 58 % maximálních hodnot po dobu alespoň následujících 100 dní.⁵³

Podle metaanalýzy zahrnující 290 observačních studií klesla časná účinnost mRNA plného očkování z 96 % během jednoho roku na 67 %. Variantně snížená účinnost očkování byla spojena pouze s variantou Omikron bez ohledu na závažnost onemocnění, typ vakcíny nebo

úplnost očkování. Úroveň ochrany byla nižší u očkovaných starších 65 let, s komorbiditami nebo u rezidentů v léčebnách dlouhodobé péče nebo v ústavech bez ohledu na počet obdržených dávek. Účinek třetí dávky mRNA byl nejasný, protože neúplně obnovená účinnost, bez ohledu na závažnost onemocnění, klesla během krátkodobého intervalu čtyř měsíců.⁵⁴ Podle multicentrické retrospektivní kohortové studie vedené u zdravotníků dosáhlo úplné očkování během osmi měsíců sledování 88,3% účinnosti, což se příliš nelišilo od 92,5% úrovně ochrany získané předchozí infekcí. Přesto byl pozorován pokles ochrany na 65 %.⁵⁵

Ochrana získaná očkováním může časem klesat, což zvyšuje možnost vzniku průlomové infekce.⁵⁶ Imunitní odpověď se však může zvýšit nejen průlomovou infekcí, ale také podáním posilující dávky vakcíny. Riziko průlomových infekcí po očkování proti COVID-19 bylo častější hlavně u starších jedinců⁵⁷, jejichž postvakcinační neutralizační protilátky mohou být v nižších hladinách.⁵⁸

U některých vakcín proti COVID-19 bylo zjištěno, že prodloužení časového intervalu mezi první a druhou dávkou může zvýšit imunitní odpověď, což může pozitivně ovlivnit také dosaženou ochranu po očkování.^{59, 60} Dále se ukázalo, že očkování proti COVID-19 může být méně imunogenní u jedinců s různými imunokompromitovanými stavy.⁶¹ Existují také důkazy, že očkovaní pacienti s hematologickými novotvary jsou častěji ohroženi vyšší mírou infekce SARS-CoV-2 nebo závažným průběhem COVID-19.⁶²

2.3. Implementace očkování proti COVID-19

Vzhledem k nedostatku očkovacích látek na začátku implementace očkování v roce 2021 byla provedena prioritizace skupin obyvatel. Primárně bylo třeba očkovat osoby ve zvýšené expozici a osoby ve zvýšeném riziku komplikací. Do první fáze očkování, v období od ledna do března 2021, byli zahrnuti senioři nad 80 let, zdravotničtí pracovníci či osoby hospitalizované v zařízeních následné či dlouhodobé lůžkové péče. V následující fázi od března do června 2021 se k očkování mohli dostavit senioři nad 65 let, osoby s vybranými chronickými onemocněními a osoby vykonávající povolání nezbytná pro zajištění funkce státu, mezi něž patřili i účastníci této studie.^{63, 64, 65} S rostoucí zásobou vakcín bylo posléze možné přistoupit k očkování každého občana bez ohledu na věk, zdravotní stav či povolání.

Od začátku očkování až do konce června 2021 platila 90denní lhůta, po kterou se jedinci, kteří se zotavili z onemocnění COVID-19, nemohli očkovat. Z důvodu výskytu mutací viru SARS-CoV-2 byla tato lhůta zrušena a očkování bylo povoleno ihned po skončení izolace.⁶⁶ Podle některých studií vedla tzv. hybridní imunizace k lepší ochraně proti koronavirové infekci než imunita získaná pouze očkováním.^{67, 68, 59}

V listopadu 2021 oznámila Světová zdravotnická organizace novou variantu koronaviru, která dostala označení Omikron.⁶⁹ Tato varianta měla ve srovnání s předchozími variantami zvýšenou přenositelnost a větší odolnost vůči imunitě vyvolané očkováním.⁷⁰ Právě nové mutace variant Omikron umožňovaly viru snadno uniknout přirozeně nebo očkováním získané imunitě, protože ani T-lymfocyty nedokázaly tuto novou variantu rozpoznat.⁷⁰ Ochrana proti onemocnění COVID-19 se po základním očkování pomalu vytrácela a s tím se opět zvyšovalo riziko hospitalizací a úmrtí.⁷¹ Výsledky studií dospěly k závěru, že přeočkování posilovací dávkou mRNA-vakcínou významně snižuje možnost reinfekce SARS-CoV-2 nebo přispívá k mírnému průběhu onemocnění.^{72, 73, 74} Booster-dávka byla doporučena alespoň těm jedincům, kteří jsou imunokompromitováni nebo mají souběžné komorbidity.⁷⁵ Navazující studie však ukázaly, že ochrana navozená posilující dávkou se po několika měsících od podání opětovně snížila.⁷⁶ Proto jsou v současnosti doporučována pravidelná

posilující očkování zejména u seniorů, imunokompromitovaných a těžce nemocných pacientů.⁷⁷

Dne 5. května 2023 oznámil generální ředitel Světové zdravotnické organizace, že COVID-19 již nepředstavuje mimořádnou událost mezinárodního významu pro veřejné zdraví. Důvodem byla klesající incidence tohoto onemocnění, zvyšující se imunita populace, klesající úmrtnost a snižující se tlak na zdravotnické systémy, což vedlo k pozvolnému návratu k podobnému životu jako před pandemií.⁷⁸

3. CÍL STUDIE

Pandemie zapříčiněná virem SARS-CoV-2 si vyžádala nové vakcíny proti COVID-19, které se podařilo rychle vyvinout, klinicky ověřit a vyrobit do konce roku 2020. I když byly připraveny různé typy vakcín, ty s novou technologií mRNA byly ve většině zemí Evropy přijaty k masivnímu očkování národních populací.

Potřeba rychle proočkovat obyvatelstvo při limitovaných dodávkách mRNA-vakcín si vyžádala prioritizaci obyvatelstva podle stupně ohrožení. V prvních měsících byla upřednostněna nejstarší populace obyvatelstva spolu se zdravotníky, tedy profesemi v přední linii čelícími nejvyššímu tlaku možné expozice šířící se infekce. Protože do stejné kategorie jako zdravotníci patří také vojáci, jejich očkování bylo zahájeno už v jarních měsících roku 2021.

Přestože mRNA-vakcíny vykazovaly dobrou a přijatelnou bezpečnost doloženou do té doby provedenými klinickými studiemi, přetrvávala potřeba dalšího sledování všech nežádoucích příhod zaznamenaných po očkování obyvatelstva, včetně provádění observačních studií. Proto jsme se rozhodli provést tuto kohortovou studii, vedenou u vojáků z povolání, která měla za cíl primárně zhodnotit bezpečnost očkování mRNA-vakcínami.

Kromě standardního měření frekvence nežádoucích příhod, a to jak vyžádaných, tak náhodných, jsme sledovali v předem stanovených časových bodech změnu hematologických parametrů. Zařazeným účastníkům bylo odebíráno sérum, a to pro zhodnocení případných autoprotilátek a specifických protilátek proti S-proteinu indukovaných tímto očkováním. Proto jsme jako sekundární cíl zvolili zhodnocení postvakcinační imunity v několika časových bodech. Mimoto surveillance laboratorně potvrzeného onemocnění COVID-19 nám umožnila vyhodnotit efekt očkování s ohledem na průlomové infekce u jedinců, kteří byli pouze očkováni, a u jedinců očkovaných po předchozím onemocnění COVID-19.

4. METODY

4.1. Uspořádání studie

Provedli jsme prospektivní kohortovou studii, plánovanou na dobu zhruba jednoho roku s možnou odchylkou šesti měsíců. Začátek studie byl naplánován na duben 2021, kdy bylo zahájeno očkování vojáků z povolání.

Celkem bylo plánováno 10 návštěv (označených jako V1–V10), do kterých se nezapočítalo očkování proti COVID-19, které každý účastník studie podstoupil v očkovacím centru, tj. mimo místo vedení studie. Návštěvy před očkováním mohly být provedeny ve stejný den jako očkování nebo až o šest dní dříve.

Poslední, tedy 10. návštěva, plánovaná zhruba jeden rok po zahájení studie, nemusela být u všech účastníků uskutečněna, protože závisela na časových možnostech každého účastníka. Naopak všech prvních devět návštěv, které měly být završeny do zhruba tří měsíců po zahájení očkování, bylo předem dohodnuto s každým účastníkem studie.

Uspořádání časových milníků studie bylo nastaveno tak, aby odráželo rozdílný časový interval mezi dvěma dávkami základního očkování, ať už způsobený konkrétní vakcínou, nebo v důsledku opožděného očkování. Proto byl čas očkování první a druhou dávkou vždy volen jako nula a další návštěvy se odpočítávaly od příslušného očkování první nebo druhou dávkou.

Posilující očkování booster-dávkou nebylo primárně plánováno, bylo však uvažováno jako přípustné. V případě, že k němu došlo, nebylo hodnoceno v analogii prvních dvou dávek, ale pouze v rámci poslední návštěvy studie, protože ne všichni účastníci studie toto očkování podstoupili. Proto výsledky očkování třetí dávkou byly pouze dokumentující případný rozdíl u booster- a primoočkovaných účastníků.

Při každé návštěvě byl naplánován odběr vzorku krve pro stanovení hematologických parametrů a získání séra. Každý účastník byl během návštěv po očkování dotazován na očekávané nežádoucí příhody a sám vypovídal o jakékoli zdravotní události, ke které došlo mezi předešlou a aktuální návštěvou.

Při první návštěvě bylo provedeno fyzikální vyšetření, stanovena osobní anamnéza, zaměřená na kouření, diety, souběžná onemocnění, včetně užívání souběžné léčby. Vitální parametry byly měřeny při první a páté návštěvě. Přehled úkonů při každé návštěvě je uveden v tabulce 2.

Studie byla vedena na dvou pracovištích, tj. v Ústavu leteckého zdravotnictví v Praze a v Centru zdravotních služeb Armády České republiky v Praze-Kbelích. Vzorky krve byly zpracovány v centrální laboratoři synlab czech s. r. o., Jankovcova 1518/2, Praha 7, kde byly stanoveny hematologické parametry a získaná séra se zde uchovávala po celou dobu sběru všech vzorků. Sérologické vyšetření bylo centrálně prováděno v další laboratoři v Nemocnici Havlíčkův Brod, Husova 2624, Havlíčkův Brod.

Očkování proti COVID-19 probíhalo zejména v očkovacích centrech, případně v Centru zdravotních služeb AČR v Praze-Kbelích. Volba komerční vakcíny byla dána dostupností konkrétní vakcíny v daném centru a příslušném čase. Nebylo možné naplánovat přiřazování vakcín v posloupnosti zařazovaných účastníků.

Tato kohortová studie byla prováděna v souladu s principy správné klinické praxe, všichni účastníci podepsali před vstupem do studie informovaný souhlas a studie byla řádně schválena etickou komisí 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

Tabulka 2: Časový plán studie, včetně základních činností v každém studijním bodě

Návštěva (V)	Den $\pm$ odchylka	Odběr krve	Vitální funkce	Nežádoucí příhody	Fyzikální vyšetření
Očkování 1	0				
V1	-3 $\pm$ 3	X	X		X
V2	2 $\pm$ 1	X		X	
V3	7 $\pm$ 1	X		X	
V4	16 $\pm$ 2	X		X	
Očkování 2	0				
V5	-3 $\pm$ 3	X	X	X	
V6	2 $\pm$ 1	X		X	
V7	7 $\pm$ 1	X		X	
V8	16 $\pm$ 2	X		X	
V9	70 $\pm$ 7	X		X	
Očkování 3*	neplánované				
V10	180–365	X		X	

**) posilující očkování nebylo v původním protokolu plánováno, ale bylo umožněno na základě přibývajících poznatků o perzistenci postvakcinační ochrany*

4.2. Studijní populace

Do studie byli zařazeni výhradně vojáci z povolání. Jednalo se o vojáky zastávající v armádě různé pozice, jako jsou piloti, palubní průvodčí, pozemní technický personál a další, patřící pod základnu dopravního letectva v Praze. Podmínkou pro zařazení bylo seznámení každého vojáka s touto studií, který svůj souhlas s účastí ve studii vyjádřil podpisem.

Zařazovací kritéria byla:

- dospělý muž nebo žena ve věku 18–55 let,
- zdravotní způsobilost k výkonu vojenské činné služby,
- podepsaný informovaný souhlas.

Vyřazovací kritéria byla:

- známá přecitlivělost na některou ze složek vakcíny,
- neochota se očkovat proti COVID-19,
- předěšlé očkování proti COVID-19,
- těhotenství.

Každý účastník měl právo ze studie vystoupit, pokud odvolal svůj souhlas. Účastníka bylo možné vyřadit také v případě, že nespolupracoval, nemohl se dostavit na několik návštěv, nebo se u něj objevily jakékoli zdravotní komplikace neumožňující další pokračování ve studii. Vyřazené subjekty nebylo možné nahradit jinými účastníky.

4.3. Měření ve studii

Odebrané vzorky krve ve zkumavkách byly označeny číslem subjektu (pořadové číslo v posloupnosti zařazování subjektu) a datem odběru tak, aby bylo možné dohledat posloupnost návštěv konkrétního účastníka studie. Čísla subjektů byla vedena v záznamovém listu subjektu a v seznamu účastníků s plným jménem. Tyto záznamy se vedly výhradně

v centru, které se podílelo na této studii. Nebyly nikomu předávány, aby byla dodržena anonymita zařazených účastníků.

Hematologické stanovení bylo výhradně prováděno v jedné centrální laboratoři synlab czech s. r. o., Jankovcova 1518/2, Praha 7, kam byly přepravovány vzorky krve odebírané do fialové zkumavky BD Vacutainer K2E. Převoz byl prováděn standardním postupem svozu vzorků této centrální laboratoře. Každému subjektu byly odebrány 3 ml krve pro jedno stanovení. Vzorek byl v centrální laboratoři zpracován bezprostředně pomocí analyzátoru XN-10 firmy Sysmex CZ s. r. o., který byl součástí hematologické linky XN-9100DI společně s nátěrovým a barvicím automatem SP-50 a digitální mikroskopií DI-60. Erytrocyty a trombocyty byly detekovány na základě impedanční metody s usměrněním buněk proudem nosné kapaliny. Leukocyty se měřily v analyzátoru průtokovou cytometrií s přidáním lyzačního činidla.

Ze stanoveného krevního obrazu byly ve studii dále hodnoceny absolutní počet leukocytů, erytrocytů, trombocytů, eozinofilů, bazofilů a hematokrit. Neutrofily, lymfocyty a monocyty byly hodnoceny nejen v absolutním počtu, ale také v relativním. Ostatní parametry krevního obrazu nebyly ve studii uplatněny. Všechny získané vzorky k hematologickému vyšetření byly plánovány ve všech studijních bodech.

Pro sérologické stanovení byla krev odebírána do žluté zkumavky BD Vacutainer SST II Advance a každému subjektu bylo odebráno 8,5 ml pro získání séra v příslušném časovém bodě studie. Vzorek byl přepraven do centrální laboratoře synlab czech s. r. o., kde byla provedena centrifugace krve na centrifuze Retixa 50 RS (výrobce Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Föhrenstr. 12, 78532 Tuttlingen, Německo) po dobu 10 minut při 4 000 otáčkách za minutu a teplotě 20 °C. Získané sérum bylo rozděleno minimálně do dvou mikrozkuvek Eppendorf, které byly hluboce zamrazeny a uchovány při teplotě zhruba minus 80 °C v hlubokomrazicím boxu od výrobce Haier Biomedical po celou dobu prováděných odběrů ve studii. Na konci sběru sér byly všechny vzorky převezeny do centrální laboratoře v Nemocnici Havlíčkův Brod, Husova 2624, Havlíčkův Brod.

Transport sér byl proveden v termoboxech na suchém ledu tak, aby nedošlo k jejich rozmrazení. Manipulace se séry mimo „mrazák“ nebyla delší než 12 hodin a žádný vzorek nerozmrzl.

V nemocniční laboratoři byly vzorky použity k sérologickému stanovení IgG-protilátek specifických proti S-proteinu a ke stanovení autoprotilátek – šlo o antinukleární protilátky (ANA), antineutrofilní cytoplazmatické protilátky (ANCA) a protilátky proti apolipoproteinu A-1. Všechna sérologická stanovení prováděná metodou ELISA byla vedena tak, aby se minimalizovala laboratorní chyba v důsledku stanovení více než 90 vzorků sér. Proto laboratoř stanovení sér prováděla najednou během dvou až tří dní. Aby se eliminovala laboratorní chyba, byly optické hustoty korigovány optickými hustotami jediného kontrolního séra použitého pro konkrétní stanovení na jedné destičce.

Ke stanovení protilátek anti-S IgG byla použita metoda SARS-CoV-2 IgG II Quant (výrobce Abbott Ireland, Diagnostics Division, Sligo, Irsko). Výsledky měření byly vyjádřeny v jednotkách určených výrobcem jako AU/mL. Tyto jednotky měly výrobcem deklarovaný přepočít na jednotky BAU/mL pomocí jednoduchého multiplikačního koeficientu 0,142. Séropozitivita určená výrobcem byla mez 50,0 AU/mL.

Autoprotilátky ANA a ANCA byly stanoveny pomocí nepřímých imunofluorescenčních testů ANCA Granulocyte mosaic a ANA cell nuclei (ANA global test) (výrobce Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck, Německo). Přítomnost těchto autoprotilátek byla hodnocena jen binárně bez ohledu na jejich intenzitu.

Autoprotilátky AAA1 byly stanoveny jedinou komerčně dostupnou soupravou Human anti-apolipoprotein A1 (Apo-A1) antibody ELISA Kit (Cusabio Technology LLC, Wu-chan, Čína). Hladiny těchto protilátek byly vyjádřeny jako poměr optických hustot vzorku a kontrolního séra. Pokud byl tento poměr $\geq 2,1$, výrobce ho deklaroval jako AAA1 pozitivní sérum.

Sérologické stanovení nebylo provedeno ve všech časových bodech studie z důvodů vysokých nákladů, kapacity preanalytické fáze a významu naměřených výsledků. Proto byly protilátky specifické proti S-proteinu stanoveny z V1, V5, V8, V9 a V10 a autoprotilátky ANA a ANCA z V1, V5 a V9. Autoprotilátky proti apolipoproteinu A-1 byly stanoveny ze všech studijních bodů s výjimkou V3 (tabulka 3).

Během návštěv byly zaznamenávány nežádoucí příhody po očkování. Byl veden nejen popis příhody, ale zaznamenával se také její nástup a ukončení, její intenzita, jaké opatření bylo provedeno a s jakým výsledkem.

Nežádoucí příhody byly podle intenzity rozřazeny na mírné, průměrné a těžké. Pokud příhoda spontánně nevymizela, bylo dokumentováno opatření, tj. léčba, hospitalizace apod. Očekávaným výsledkem bylo uzdravení. V případě, že tomu tak nebylo, zaznamenal se stav přetrvávající až do konce studijního sledování. Vztah k očkování byl hodnocen výhradně lékařem, který nežádoucí příhodu zaznamenal.

Provedené očkování, včetně komerčního názvu použité vakcíny, bylo získáno výpovědí účastníka a následně bylo verifikováno ze záznamu vedeného v národní databázi ISIN. Také informace o prožití infekce SARS-CoV-2, jak před očkováním (primoinfekce), tak po očkování (průlomová infekce), byla získána od každého účastníka výpovědí s následnou verifikací ze stejné národní databáze.

Tabulka 3: Přehled provedených laboratorních vyšetření ve studii

Stanovení	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10
KO diff	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
ANA, ANCA	x				x				x	
AAA1	x	x		x	x	x	x	x	x	x
anti-S IgG	x				x			x	x	x

4.4. Statistika

Kontinuální proměnné byly reprezentovány průměrem zahrnujícím 95% interval spolehlivosti, směrodatnou odchylkou (SD), mediánem, včetně 1. a 3. kvartilu, minimální a maximální hodnotou. Jejich porovnávání bylo prováděno parametrickými nebo neparametrickými statistickými testy v závislosti na splnění testu normality. Kategoriální proměnné byly vyjádřeny absolutními a relativními četnostmi (počet a procentuální počet), včetně 95% intervalu spolehlivosti. Kontinuální veličiny byly transformovány do kategoriálních podle jejich mediánu (věk, BMI) nebo podle ustálených pravidel ($\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$ = normální tělesná hmotnost, $25\text{--}30 \text{ kg/m}^2$ = nadváha a $> 30 \text{ kg/m}^2$ = obezita). Porovnávání kategoriálních dat bylo vedeno buď Fisherovým exaktním testem (dichotomické veličiny), nebo Pearsonovým χ^2 -testem.

Pozitivita autoprotilátek byla vyjádřena mírou, která byla dále testována logistickou regresí tak, aby byl eliminován vliv zavádějících faktorů. K tomu byly vybrány demografické faktory (věk, pohlaví), zdravotní faktory (obezita, souběžné onemocnění), behaviorální faktory

(kouření), infekční faktory (pre- nebo postvakcinační onemocnění COVID-19), imunizační faktory (počet podaných dávek, interval mezi dávkami, délka doby po očkování).

Tato kohortová studie byla vedena jako pilotní a nevyžadovala předchozí stanovení velikosti vzorku. Zjištěné nálezy byly doplněny analýzou síly testu, které napomohly zhodnotit robustnost výsledku, včetně jeho reprodukovatelnosti.

Všechny analýzy byly prováděny na hladině významnosti 0,05 při oboustranném intervalu spolehlivosti. Statistické testy a analýzy byly provedeny pomocí statistického softwaru STATA verze 17 (StatCorp, Texas, USA) nebo Prism 9 (verze 9, GraphPad Software, Inc).

5. VÝSLEDKY

5.1. Demografie

Tato prospektivní kohortová studie byla zahájena 9. dubna 2021 (zařazením prvního účastníka) a skončila 13. května 2022 (poslední odběr posledního zařazeného účastníka ve studii). Celkem bylo zařazeno 83 zdravých dobrovolníků, z nichž 64 (77,1 %) bylo mužů. Průměrný věk, včetně směrodatné odchylky (SD), celé studijní populace byl $39,8 \pm 7,2$ roku a věkový rozsah se pohyboval od 24 do 55 let.

Před zařazením do studie celkem 28 (33,7 %) subjektů uvedlo primoinfekci SARS-CoV-2, a byly tak hodnoceny ve skupině primoinfikovaných. Ostatní účastníci byli před zahájením očkování považováni za imunitně naivní. K primoinfekci u výše uvedených účastníků došlo v období 30 až 225 dní před zařazením do studie, tj. průměrně $4,9 \pm 1,9$ měsíce. Mezi muži a ženami nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v počtu primoinfikovaných před zařazením do studie, tj. 25 (36,2 %) mužů a tři (21,4 %) ženy. Průměrný věk primoinfikovaných ($42,1 \pm 5,2$ roku) před očkováním byl statisticky významně vyšší než věk imunitně naivních účastníků ($38,6 \pm 7,7$ roku), tj. $p = 0,032$.

Ve studijní populaci bylo celkem 15 (18,1 %) kuřáků. Počet kuřáků mezi primoinfikovanými (šest kuřáků) a naivními (devět kuřáků) se významně nelišil, tj. $p = 0,562$. I když pouze jedna žena uváděla, že kouří, rozdíl v počtu kuřáků mužů (14 účastníků) a žen nebyl statisticky významný, tj. $p = 0,447$.

Průměrný index tělesné hmotnosti (BMI), včetně SD, byl $26,3 \pm 3,5$ kg/m². BMI se mezi primoinfikovanými subjekty ($27,4 \pm 3,6$ kg/m²) a imunitně naivními účastníky ($25,8 \pm 3,4$ kg/m²) statisticky významně nelišil, tj. $p = 0,069$. Celkem 30 (36,1 %) účastníků mělo normální tělesnou hmotnost (< 25 kg/m²), 38 (45,8 %) účastníků dosáhlo nadváhy a do skupiny obézních spadalo 15 (18,1 %) subjektů (BMI > 30 kg/m²). Přehled počtu subjektů s ohledem na nadváhu a obezitu je uveden v tabulce 4. Rozdíly počtu imunitně naivních a primoinfikovaných účastníků s ohledem na normální tělesnou hmotnost, nadváhu a obezitu nebyl významný, tj. $p = 0,253$.

Souběžné onemocnění bylo dokumentováno u 18 (21,7 %) subjektů. Četnost komorbidit byla před očkováním stejná jak u primoinfikovaných (17,9 % subjektů), tak u imunitně naivních účastníků (23,6 % subjektů), tj. $p = 0,779$. Nejčastěji byly zaznamenány arteriální hypertenze (12 % subjektů), dyslipidemie (3,6 % subjektů) a tyreoiditida (3,6 % subjektů). Přehled všech dokumentovaných komorbidit je uveden v tabulce 5.

Tabulka 4: Přehled účastníků s ohledem na BMI

BMI (kg/m ²)	Celkem	Imunitně naivní	Primoinfikovaní
$\leq 24,9$	30 (36,1 %)	23 (27,7 %)	7 (8,4 %)
25–29,9	38 (45,8 %)	24 (28,9 %)	14 (16,9 %)
≥ 30	15 (18,1 %)	8 (9,6 %)	7 (8,4 %)

Tabulka 5: Přehled souběžného onemocnění podle klasifikace MKN-10

MKN-diagnóza	Celkem	Imunitně naivní	Primoinfikovaní
E66	15	8	7
I10	10	6	4
E78.9	3	1	2

MKN-diagnóza	Celkem	Imunitně naivní	Primoinfikovaní
E06.3	4	4	0
K21	2	1	1
E79.0	1	0	1
K50.9	1	1	0
G47.9	1	1	0
M17	1	1	0
K76.0	1	1	0
M54	1	1	0
E11.9	1	0	1
Y41.2	1	0	1
Y42.4	1	1	0
Z22.6	1	1	0

E66 – obezita-otylost, I10 – esenciální (primární) hypertenze, E78.9 – porucha metabolismu lipoproteinů, E06.3 – autoimunitní tyreoiditida, K21 – gastroezofageální reflux, E79.0 – hyperurikemie bez známek zánětlivé artritidy a tofů, K50.9 – Crohnova nemoc, G47.9 – porucha spánku, M17 – gonartróza, K76.0 – steatóza jater, M54 – dorzalgie, E11.9 – diabetes mellitus 2. typu bez komplikací, Y41.2 – antimalarika, Y42.4 – orální antikoncepce, Z22.6 – nosič infekce lidským T-lymfotropním virem typu 1

5.2. Studijní compliance

Při každé návštěvě se odebíral vzorek krve pro hematologické a sérologické vyšetření. Pokud se účastník nedostavil na předepsanou návštěvu, vzorek scházel. V některých případech se nepodařilo subjektu krevní vzorek odebrat, nebo vzorek krve se před stanovením vysrážel (před transportem nebo v jeho průběhu). Absence sér oproti hematologickému stanovení byla také zapříčiněna nedostatečným množstvím odebraného vzorku. Přehled odebraných vzorků a provedených stanovení při jednotlivých návštěvách je uveden v tabulce 8.

Pouze při návštěvě 9 se podařilo všem zařazeným subjektům odebrat všechny vzorky pro předepsané hematologické a sérologické stanovení. Absence návštěv účastníků byla pozorována ve všech návštěvách (vyjma návštěvu 9). Největší absence byla při návštěvě 6 (tj. 2 ± 1 den po druhém očkování) a při poslední návštěvě (V10). Poslední návštěva, plánovaná v rozsahu šesti až 12 měsíců po druhém očkování, nebyla nutná. Navíc mezi 9. a 10. návštěvou byla zaznamenána průlomová infekce (selhání očkování) u celkem 22 účastníků, z nichž 19 bylo před očkováním imunitně naivních a tři subjekty vstoupily do studie již primoinfikované. Proto tato návštěva byla dále považována za doplňující a výsledky stanovení nebyly zařazeny do primárního hodnocení cílů studie.

K odůvodněním absence účastníků při některé z plánovaných návštěv patřily nejčastěji pracovní zaneprázdněnost, akutní onemocnění nebo dovolená. Absence při poslední návštěvě byla často odůvodněna mimo jiné také účastí na zahraničních misích.

Odchytky skutečně provedených návštěv zařazených subjektů oproti plánovaným intervalům jsou uvedeny v tabulce 6. Podařilo se dodržet termín návštěvy před plánovaným očkováním (první nebo druhou dávkou), tj. nebyla provedena později než v den očkování. Vzniklé odchytky, prodloužení intervalu vyplývaly z důvodu pracovního zaneprázdnění, onemocnění a zapomenutí termínu.

K očkování byly použity výhradně mRNA-vakcíny: BTN162b2 (výrobce Pfizer) a mRNA-1273 (výrobce Moderna). Volba jedné z uvedených vakcín vycházela z jejich dostupnosti. Protože

v té době (únor 2021) daroval Izrael České republice 5 000 dávek vakcíny mRNA-1273, z nichž polovina byla určena české armádě, bylo prvních 15 zařazených účastníků studie očkováno právě touto vakcínou.

Úplné očkování oběma uvedenými vakcínami se provádělo podáním dvou dávek buď v intervalu šesti týdnů, nebo čtyř týdnů. Přehled intervalů mezi oběma dávkami mRNA-vakcín je dokumentován v tabulce 7. Průměrný interval mezi první a druhou dávkou obou komerčních mRNA vakcín byl 40 dní se směrodatnou odchylkou šest dní, tj. všichni byli očkováni v rozmezí čtyř až osmi týdnů. Tento interval se mezi imunitně naivními a primoinfikovanými statisticky významně nelišil, tj. $p = 0,241$.

Všichni účastníci podstoupili úplné očkování dvěma homologními dávkami, tj. obdrželi první i druhou dávku stejné komerční vakcíny. Třetí, posilující dávku podstoupilo jen 62 subjektů. K očkování byla použita jedna z obou mRNA-vakcín nezávisle na komerčním typu předešlého očkování. Průměrný interval od předešlého očkování byl 209 dní se standardní odchylkou 43 dní nezávisle na typu použité komerční vakcíny. Tento interval nevykazoval významnou odchylku mezi imunitně naivními a primoinfikovanými subjekty před zařazením do studie, tj. $p = 0,236$.

Tabulka 6: Přehled intervalů mezi návštěvami – plán a realizace

	Počet subjektů	Plánovaný interval (dny)		Realizovaný interval (dny)	
		Průměr±SD	Min–Max	Průměr±SD	Min–Max
Očkování 1. dávka					
V1	83	-3±3	-6–0	-3±4	-26–0
V2	81	2±1	1–3	2±1	1–4
V3	78	7±1	6–8	7±1	5–10
V4	81	16±2	14–18	17±2	14–23
Očkování 2. dávka					
V5	78	-3±3	-6–0	-1±2	-5–0
V6	67	2±1	1–3	2±1	1–4
V7	70	7±1	6–8	8±1	5–12
V8	82	16±2	14–18	18±3	13–36
V9	83	70±7	63–77	74±15	44–167
V10	68	180–365	180–365	310±31	242–369
Očkování 3. dávka					
V10	49	neplánováno		106±55	-42–163

Tabulka 7: Počet subjektů očkovaných komerční vakcínou BTN162b2 a mRNA-1273 celkem a podle imunitního stavu před očkováním, včetně intervalů mezi podanými dávkami

Interval mezi dávkami (dny)		Všichni			Imunitně naivní			Primoinfikovaní		
		Počet subjektů	Průměr ± SD	Min–Max	Počet subjektů	Průměr ± SD	Min–Max	Počet subjektů	Průměr ± SD	Min–Max
1.–2. dávka	Nezávisle na vakcíně	83	40,3±6,0	28–57	55	40,9±5,7	28–57	28	39,3±6,4	28–49
	BTN162b2	68	42,5±2,8	34–57	47	42,7±3,0	38–57	21	42,0±2,4	34–49
	mRNA-1273	15	30,7±7,0	28–48	8	30,5±7,1	28–48	7	30,9±7,6	28–48
2.–3. dávka	Nezávisle na vakcíně	62	208,9±42,7	141–338	44	213,0±46,8	141–338	18	198,8±29,0	159–251
	BTN162b2 (3. dávka)	48	213,3±44,5	159–338	34	218,5±47,0	169–338	14	198,1±33,4	159–251
	mRNA-1273 (3. dávka)	14	195,1±33,8	141–260	10	191,7±41,5	141–260	4	200,2±20,0	178–234

Tabulka 8: Počet zpracovaných sér a hematologických odběrů

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10
Počet subjektů	83	81	78	81	78	67	70	82	83	68
Hematologie	81	81	78	81	78	67	70	82	83	68
Počet sér	82	81	78	81	77	67	70	82	83	63
IgG anti-S	82				77			81	83	63
ANA/ANCA	82				77				83	
AAA1	82	81	78	81	77	67	70	82	83	63

5.3. Nežádoucí příhody

Během studijního sledování nebyla dokumentována žádná závažná nežádoucí příhoda. Podle popisu byl charakter reakce kategorizován jako lokální a celkový. Jakákoli reakce byla zaznamenána u 71 (85,5 %) subjektů nezávisle na počtu podaných dávek. Z celkového počtu 83 očkovaných oběma dávkami mRNA-vakcín uvedlo jakoukoli nežádoucí příhodu 59 (71,1 %) účastníků po první dávce a 71 (85,5 %) subjektů po druhé dávce. Frekvence těchto příhod byla vyšší po aplikaci druhé dávky oproti první dávce, tj. $p = 0,0374$. Posilující dávku přijalo 62 účastníků, z nichž 13 (21 %) zaznamenalo jakoukoli reakci po očkování. Oproti četnosti příhod po druhé dávce se jejich frekvence po třetí dávce významně snížila, tj. $p < 0,0001$.

Všechny nežádoucí příhody nezávisle na počtu podaných dávek spontánně vymizely a nevyžadovaly žádné opatření. Intenzita reakcí byla hodnocena jako mírná nebo průměrná. Výsledkem bylo úplné uzdravení u všech subjektů ve studii.

I když u primoinfikovaných před očkováním byla dokumentována vyšší frekvence jakékoli nežádoucí příhody (71,4 % po první dávce a 89,3 % po druhé dávce) oproti původně imunitně naivním subjektům (70,9 % po první dávce a 83,6 % po druhé dávce), rozdíl nebyl statisticky významný.

Četnost nežádoucích příhod nebyla dále hodnocena podle komerční vakcíny, protože většina účastníků (82 %) byla očkována vakcínou BTN162b2.

Lokální reakce

Nejčastěji zaznamenanou lokální reakcí byla bolest ramene, kam byla dávka aplikována, kterou zaznamenalo 45,8 % účastníků po aplikaci první dávky a 47 % účastníků po druhé dávce. I když byla tato reakce nejčastěji popisována také po třetí dávce, její frekvence se mezi účastníky snížila na 22,6 %. Někteří účastníci (3,6 % po první dávce, 12 % po druhé dávce a 1,6 % po třetí dávce) popisovali bolest v místě vpichu. Otok ramene, stejně jako zarudnutí v místě vpichu, byl zaznamenán u 2,4 % subjektů po aplikaci první dávky a tyto lokální reakce se po dalších dávkách již neobjevily. Přehled četností lokálních reakcí v závislosti na počtu podaných dávek je uveden v tabulce 9.

Celkové reakce

Nejčastěji dokumentovanou reakcí se stala únava. Ta byla popisovaná 21,7 % účastníků po aplikaci první dávky, 20,5 % subjektů po druhé dávce a 11,3 % účastníků po aplikaci třetí dávky. Po aplikaci první a/nebo druhé dávky mRNA-vakcíny více než 5 % účastníků zaznamenalo bolest hlavy, bolest kloubů a/nebo svalů a zimnici. Četnost celkových reakcí se po aplikaci druhé dávky mRNA-vakcíny sice zvýšila z 37,3 % na 43,4 %, nikoli však statisticky významně. Podobně jako lokální reakce byla frekvence celkových reakcí po posilující dávce významně nižší než po aplikaci prvních dvou dávek, tj. $p = 0,0002$. Přehled frekvencí celkových reakcí je uveden v tabulce 10.

Tabulka 9: Četnost lokálních reakcí v závislosti na počtu podaných dávek

	Počet a četnost nežádoucích příhod		
	1. dávka	2. dávka	3. dávka
Počet subjektů	83	83	62
Bolest v místě vpichu	3 (3,6 %)	10 (12,0 %)	1 (1,6 %)
Bolest ramene	38 (45,8 %)	39 (47,0 %)	14 (22,6 %)
Otok ramene	2 (2,4 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Zarudnutí v místě vpichu	1 (1,2 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Alespoň 1 lokální reakce	41 (49,4 %)	49 (59,0 %)	15 (24,2 %)

Tabulka 10: Četnost celkových reakcí v závislosti na počtu podaných dávek

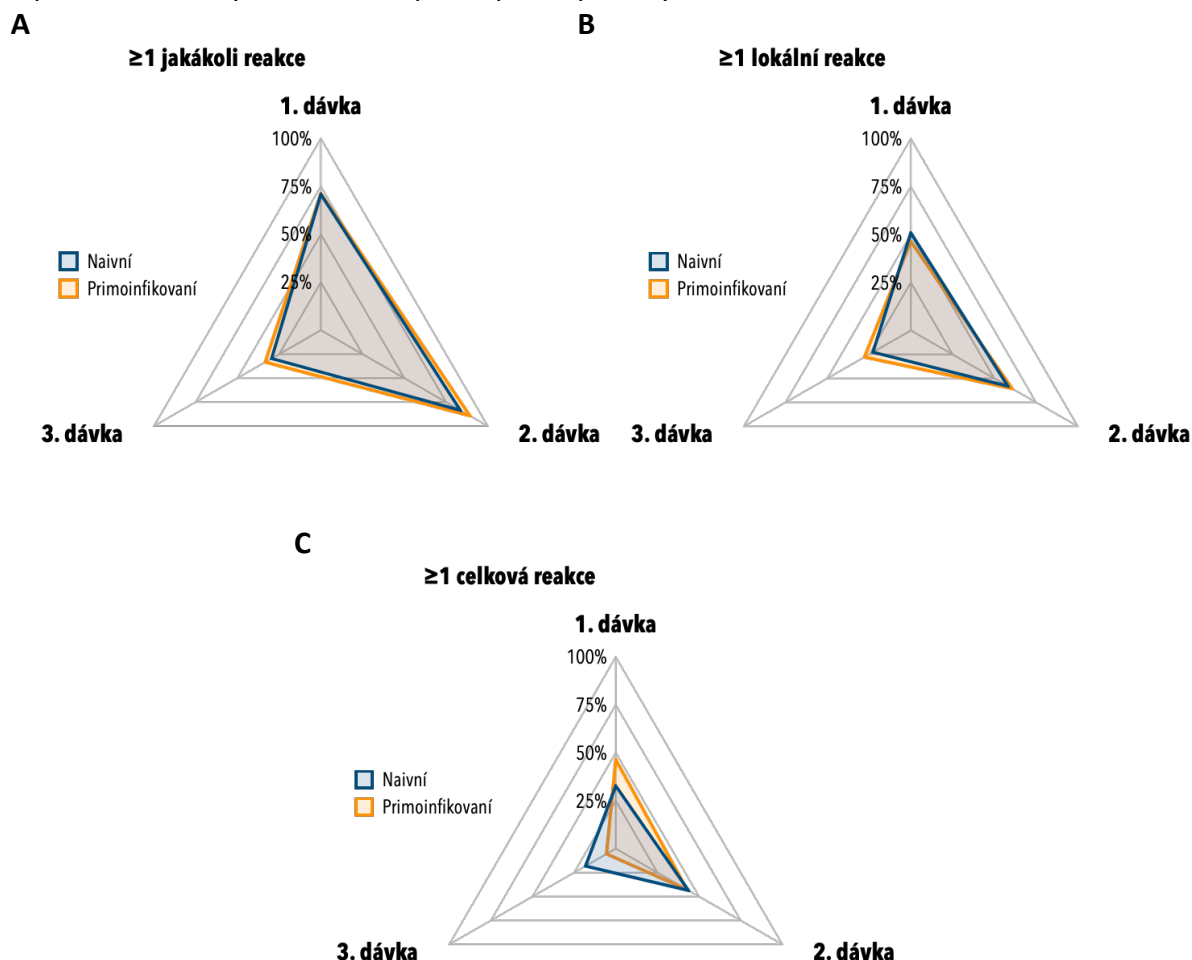
	Počet a četnost nežádoucích příhod		
	1. dávka	2. dávka	3. dávka
Počet subjektů	83	83	62
Bolest hlavy	9 (10,8 %)	13 (15,7 %)	1 (1,6 %)
Artralgie	3 (3,6 %)	5 (6,0 %)	1 (1,6 %)
Myalgie	4 (4,8 %)	5 (6,0 %)	0 (0,0 %)
Zimnice	11 (13,3 %)	12 (14,5 %)	2 (3,2 %)
Zvýšená teplota	4 (4,8 %)	4 (4,8 %)	1 (1,6 %)
Horečka	0 (0,0 %)	3 (3,6 %)	0 (0,0 %)
Únava	18 (21,7 %)	17 (20,5 %)	7 (11,3 %)
Malátnost	0 (0,0 %)	1 (1,2 %)	0 (0,0 %)
Nauzea	2 (2,4 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Pocení	1 (1,2 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Rozmazané vidění	2 (2,4 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Lymfadenopatie	3 (3,6 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Jiné	0 (0,0 %)	1 (1,2 %)	2 (3,2 %)
Alespoň 1 celková reakce	31 (37,3 %)	36 (43,4 %)	9 (14,5 %)

Nežádoucí účinky u imunitně naivních a primoinfikovaných účastníků

I když u primoinfikovaných před očkováním byla dokumentována vyšší frekvence jakékoli nežádoucí příhody (71,4 % po první dávce a 89,3 % po druhé dávce) oproti původně imunitně naivním subjektům (70,9 % po první dávce a 83,6 % po druhé dávce), rozdíl nebyl statisticky významný. K významnému poklesu četnosti jakékoli reakce došlo po aplikaci třetí

dávky jak u primoinfikovaných (33,3 %), tak původně imunitně naivních subjektů (29,5 %), jak dokumentuje graf 1.

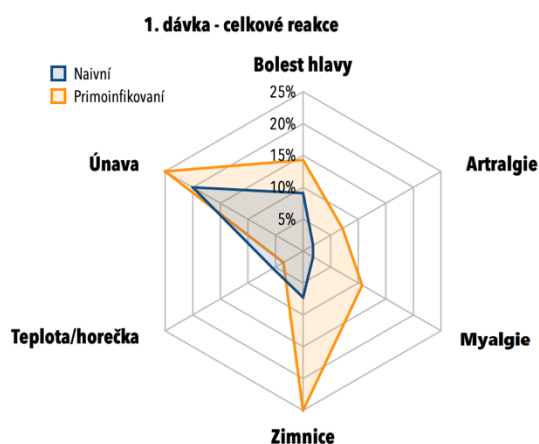
Graf 1: Četnost jakékoli (A), lokální (B) a celkové reakce (C) u imunitně naivních a primoinfikovaných účastníků podle počtu podaných dávek mRNA-vakcín



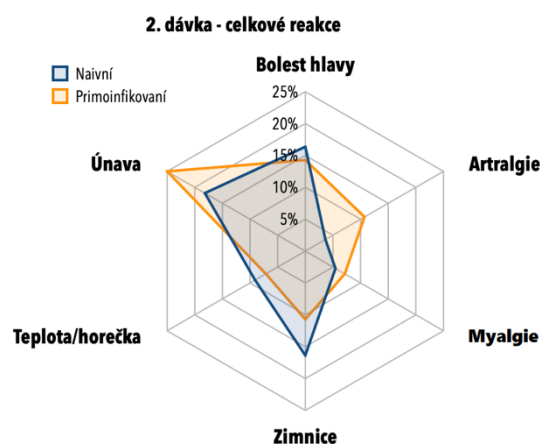
Ve shodě s tím byla pozorována změna četností jak lokálních, tak celkových reakcí po podání posilující, tj. třetí dávky. Lokální reakce se objevovaly se stejnou frekvencí nezávisle na imunitním stavu před očkováním. Podobně tomu bylo také u celkových reakcí s výjimkou zimnice, která častěji převládala po očkování první dávkou u primoinfikovaných subjektů (25 %) oproti původně imunitně naivním (7,3 %). Rozložení systémových reakcí s frekvencí > 5 % po první, druhé a třetí dávce dokumentuje graf 2.

Graf 2: Nejčtenější celkové reakce u imunitně naivních a primoinfikovaných účastníků podle počtu podaných dávek mRNA-vakcín; 1. dávka (A), 2. dávka (B), 3. dávka (C)

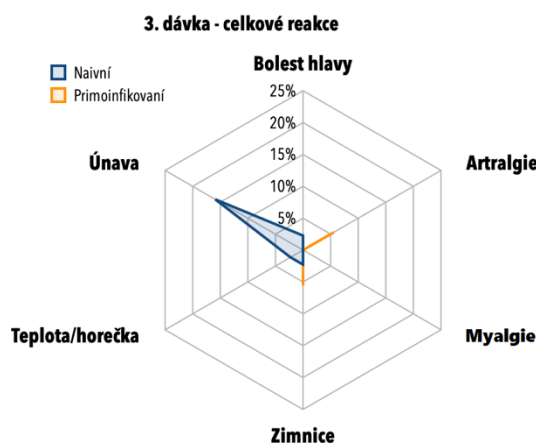
A



B



C



5.4. Hematologie

Hematologické vyšetření se provádělo z krevních vzorků odebraných při každé návštěvě subjektu. Hodnocení krevních elementů zahrnovalo leukocyty, lymfocyty, neutrofilie a monocyty, které byly rozšířeny o trombocyty, erytrocyty, včetně hematokritu, bazofily a eozinofily.

Leukocyty

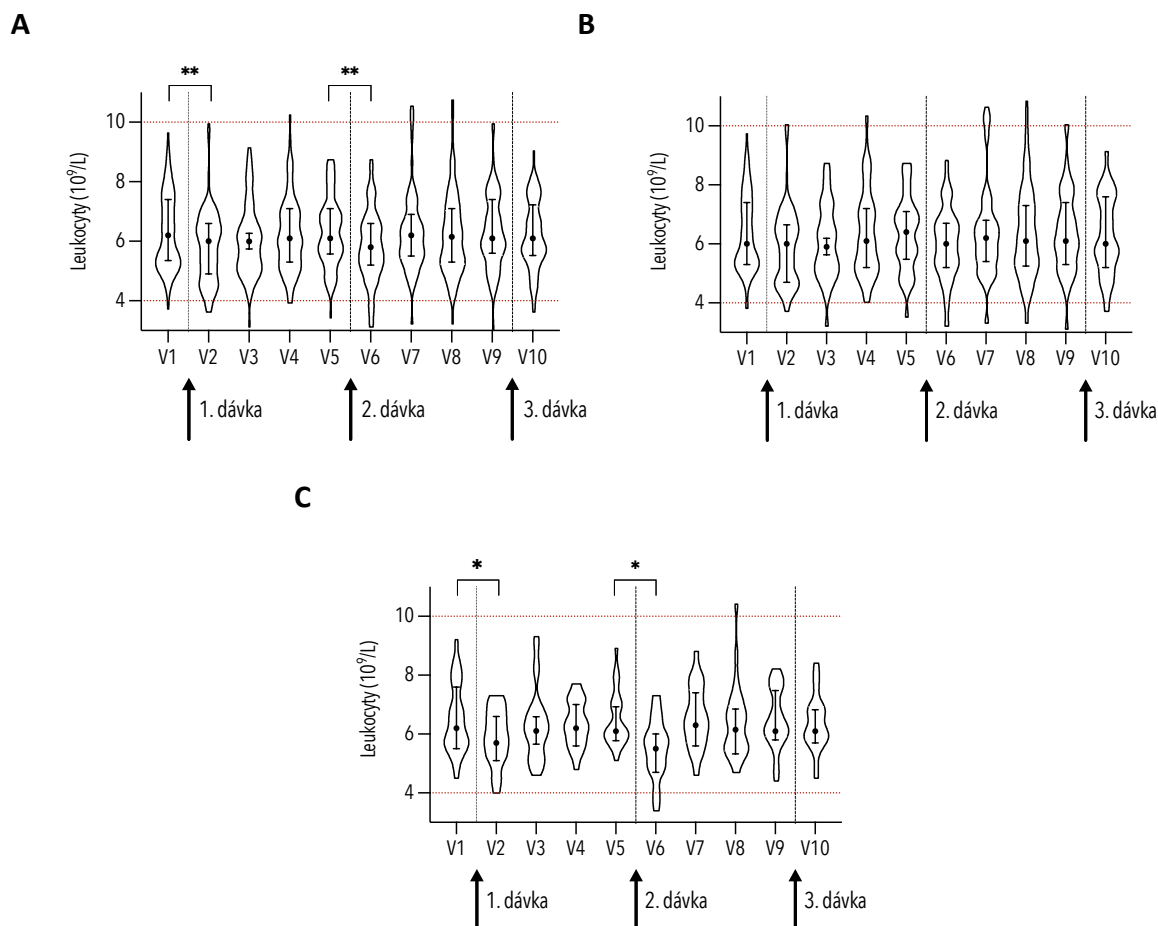
Normální meze absolutního počtu leukocytů byly přijaty v rozsahu $4-10 \times 10^9/L$. Počet leukocytů byl u některých subjektů během studijního sledování mimo uvedený rozsah normálních hodnot. Přesto tato odchylka nebyla považována za klinicky relevantní.

Po aplikaci první i druhé dávky došlo k významnému poklesu mediánu leukocytů oproti stavu před podáním příslušné dávky ($p < 0,003$), tj. k poklesu z $6,2$ na $6,0 \times 10^9/L$ po první dávce a z $6,1$ na $5,8 \times 10^9/L$ po druhé dávce mRNA-vakcí. K tomuto poklesu došlo výhradně jen zhruba dva dny po očkování nezávisle na počtu podaných dávek. Přibližně do sedmi dní po očkování se počet leukocytů vrátil na úroveň před očkováním, jak ukazuje graf 3.

Zatímco u imunitně naivních účastníků nebyl dokumentován žádný pokles, u primoinfikovaných došlo k uvedenému poklesu z $6,2$ na $5,7 \times 10^9/L$ po první dávce a z $6,1$ na $5,5 \times 10^9/L$ po druhé dávce mRNA-vakcín.

S výjimkou bezprostředního a krátkodobého poklesu počtu leukocytů u primoinfikovaných, který jen u některých subjektů dosahoval nižší hodnoty než spodní limit normálních hodnot, byl medián leukocytů po dobu studijního sledování stabilní.

Graf 3: Medián leukocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)



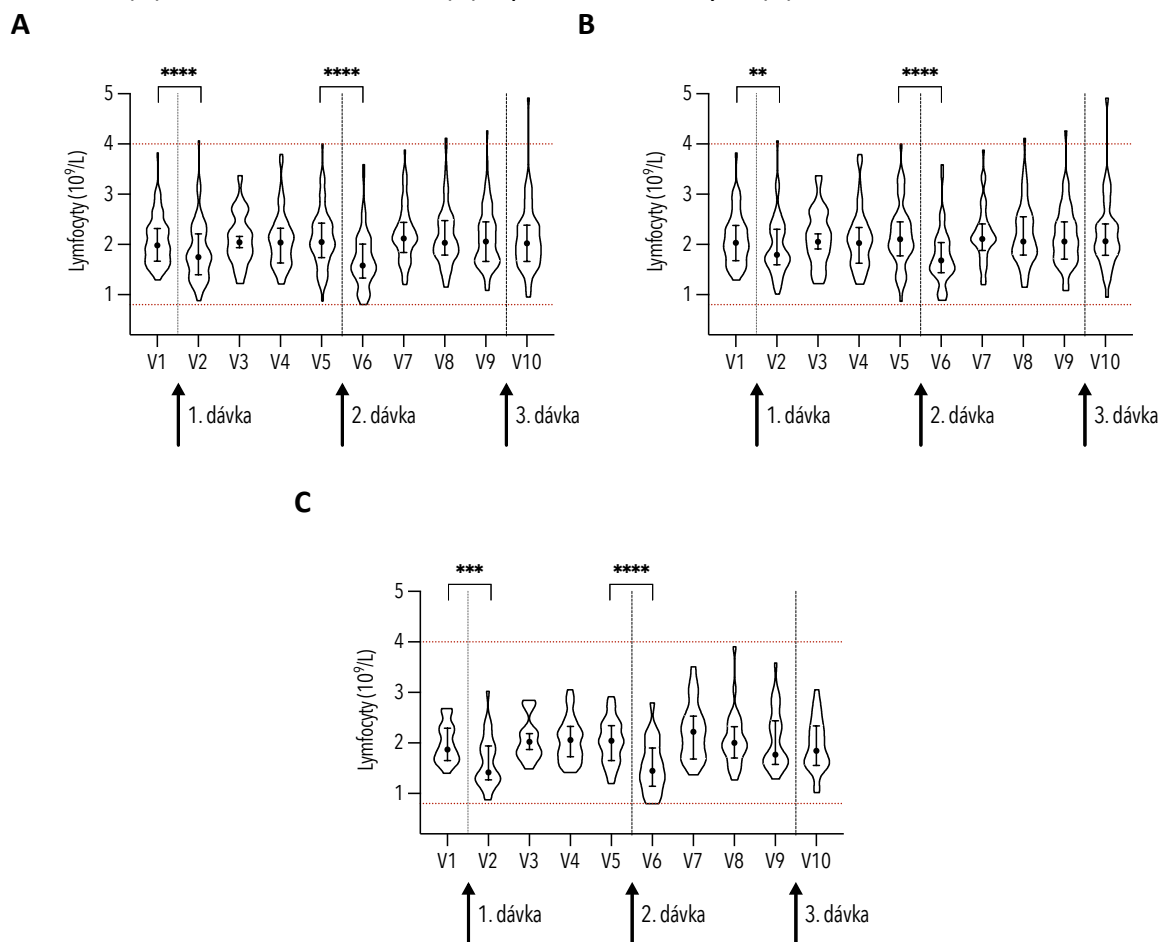
Lymfocyty, neutrofily a monocyty

Normální hladina lymfocytů byla přijata v rozmezí $0,8-4 \times 10^9/L$. I když se počet lymfocytů během prvních dvou dní po aplikaci první a druhé dávky významně snížil ($p < 0,0001$), toto snížení nedosáhlo abnormálních hodnot a bylo jen krátkodobě přechodné. Minimálně sedm a více dní po očkování byl jejich počet u všech subjektů ve studii srovnatelný s počtem před očkováním. Zaznamenané přechodné snížení bylo z $1,98$ na $1,75 \times 10^9/mL$ po první dávce a z $2,05$ na $1,58 \times 10^9/mL$ po druhé dávce. K přechodnému snížení lymfocytů došlo jak u imunitně naivních, tak primoinfikovaných účastníků (graf 4).

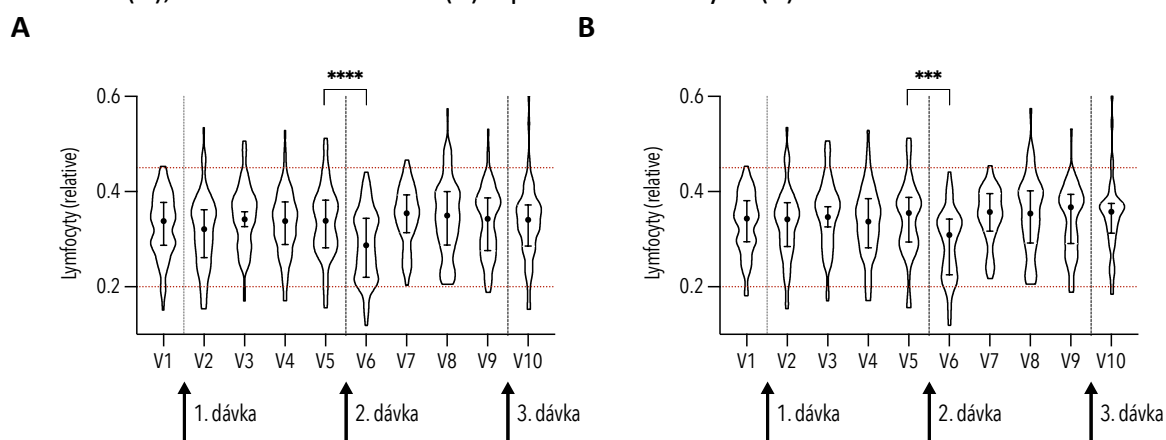
Relativní počet lymfocytů se u celého souboru snížil výhradně jen po aplikaci druhé dávky ($p < 0,0001$) z $0,34$ na $0,29$. Zatímco u imunitně naivních účastníků nastal pokles relativního počtu lymfocytů krátkodobě po druhé dávce, u primoinfikovaných byl pokles pozorován jak po první (z $0,32$ na $0,28$), tak po druhé dávce (z $0,31$ na $0,27$). Neshoda pozorovaného snížení

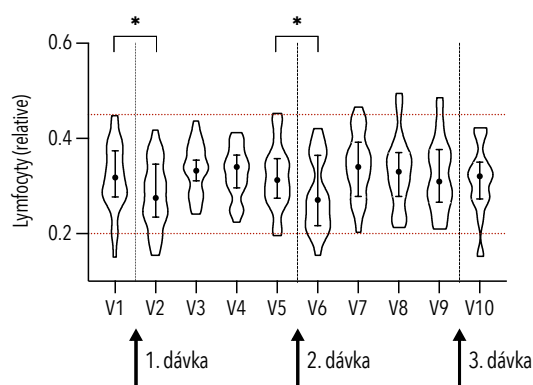
mezi relativním a absolutním počtem vycházela pravděpodobně z relativních hodnot vztažených k celkovému počtu leukocytů, které se u imunitně naivních neměnily (graf 5).

Graf 4: Medián absolutního počtu lymfocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)



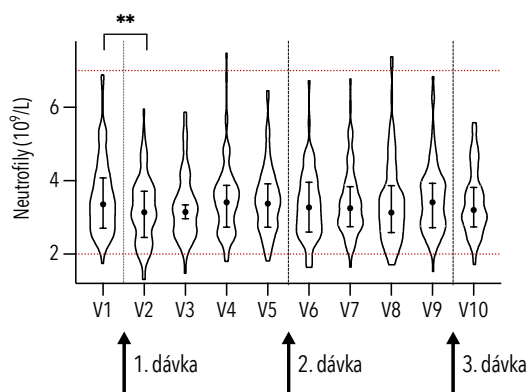
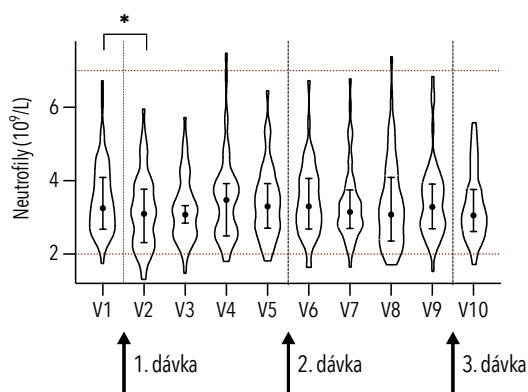
Graf 5: Medián relativního počtu lymfocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)



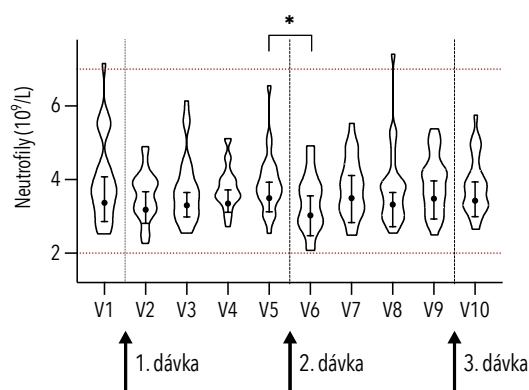
C

Normální hodnoty absolutního počtu neutrofilů byly v rozmezí $2-7 \times 10^9/\text{mL}$. U celého studijního souboru bylo pozorováno významné snížení absolutního počtu neutrofilů pouze po první dávce mRNA-vakcín ($p = 0,003$), tj. pokles z $3,36$ na $3,14 \times 10^9/\text{mL}$. Snížení přetrvávalo krátkodobě a měření v dalších studijních bodech potvrdilo jejich stabilní absolutní počet srovnatelný s počtem neutrofilů před očkováním. Zatímco u imunitně naivních bylo toto snížení neutrofilů potvrzeno jen po první dávce, u primoinfikovaných bylo snížení odhaleno až po druhé dávce ($p = 0,036$); šlo o pokles z $3,50$ na $3,03 \times 10^9/\text{mL}$ (graf 6). Relativní počty neutrofilů vztažené k celkovému počtu leukocytů nevykazovaly ve všech studijních bodech významné odchylky oproti jejich počtu před zahájením očkování (graf 7).

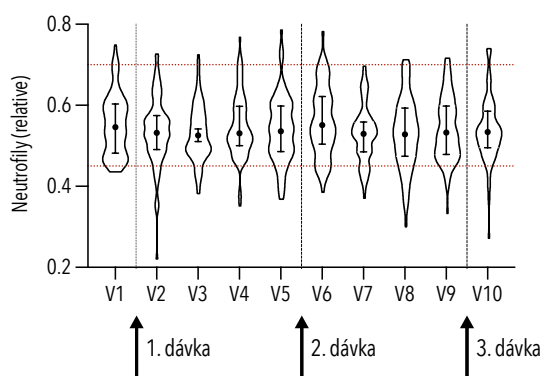
Graf 6: Medián absolutního počtu neutrofilů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)

A**B**

C



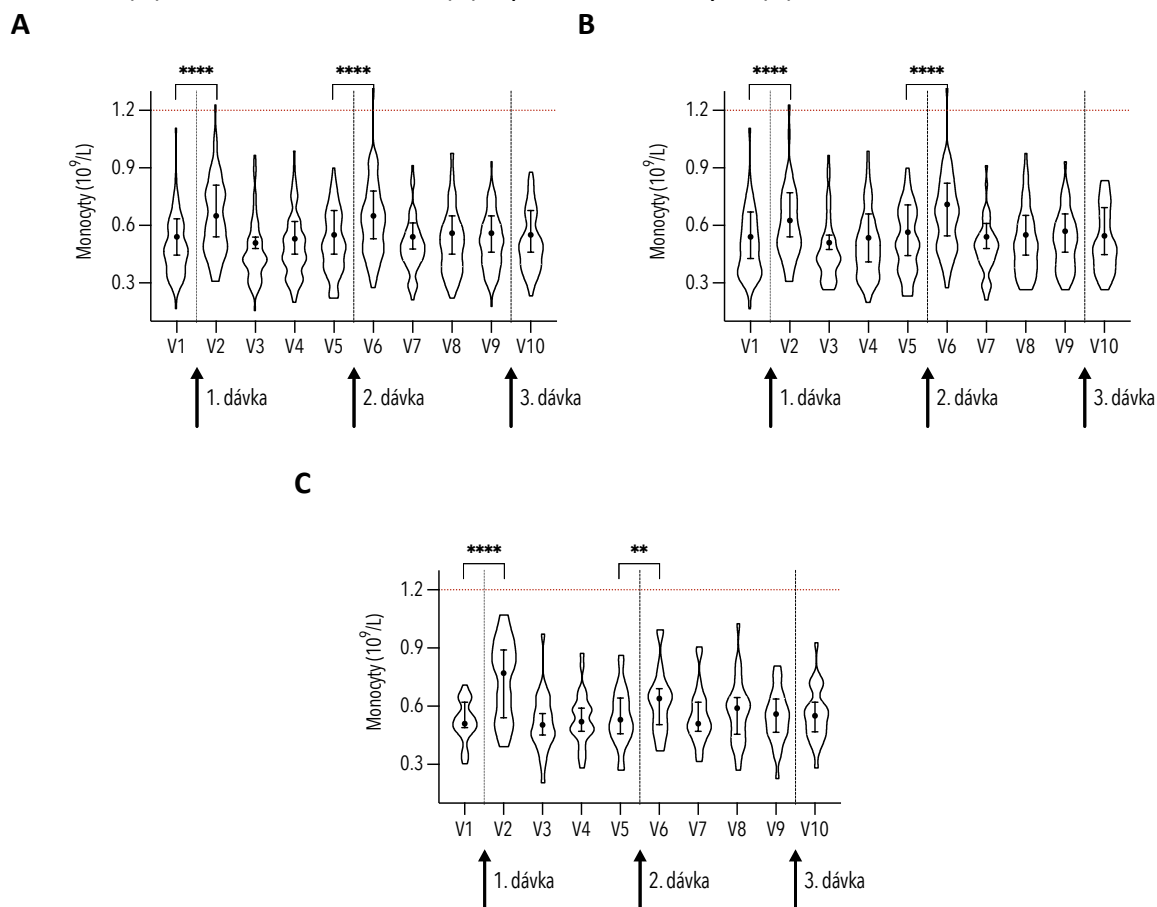
Graf 7: Medián relativního počtu neutrofilů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru



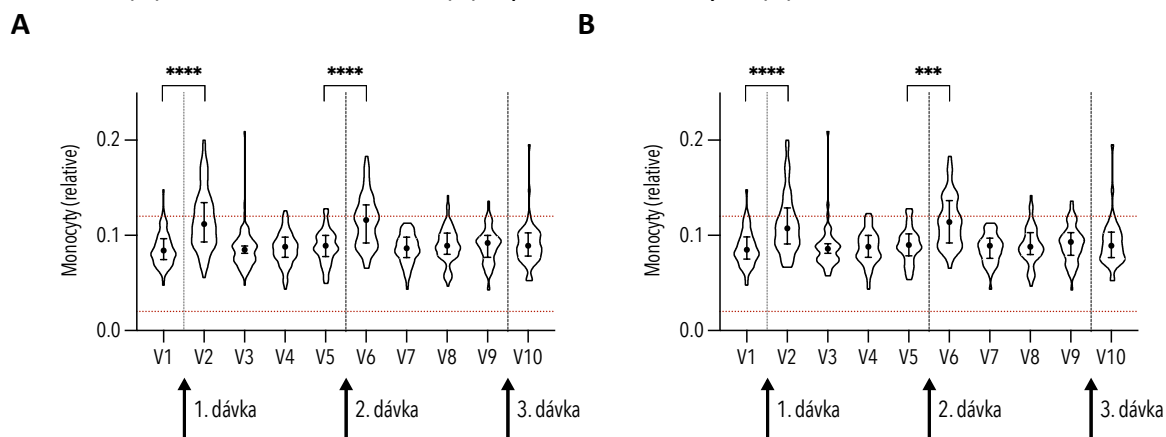
Normální hodnoty absolutního počtu monocytů byly mezi $0,08\text{--}1,2 \times 10^9/\text{mL}$ a relativního počtu mezi $0,02\text{--}0,12$. Jak absolutní, tak relativní počty monocytů vykazovaly krátkodobý nárůst během prvních čtyř dní po očkování první i druhou dávkou mRNA-vakcín ($p < 0,0001$). Nárůst byl z $0,54$ na $0,65 \times 10^9/\text{mL}$ po první dávce a z $0,55$ na $0,65 \times 10^9/\text{mL}$ po druhé dávce mRNA-vakcín. Stejný nárůst se potvrdil jak u imunitně naivních, tak u primoinfikovaných jedinců (graf 8). Také relativní stejně jako absolutní počty monocytů vykazovaly stejný trend nezávisle i závisle na prevakcinační imunitě proti SARS-CoV-2. Relativní počty monocytů po očkování stouply u více než poloviny primoinfikovaných nad normální hodnotu $0,12$ s $1,6$ násobným nárůstem oproti jejich relativnímu počtu před očkováním (graf 9).

Toto pozorované zvýšení monocytů bylo přechodné a krátkodobé, protože déle než sedm dní po očkování oběma dávkami se počty monocytů vrátily na hodnoty odpovídající jejich počtu před očkováním.

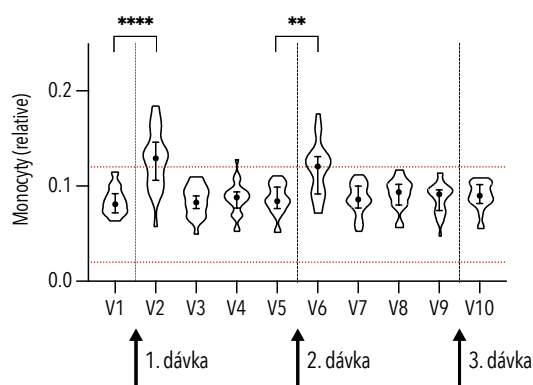
Graf 8: Medián absolutního počtu monocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)



Graf 9: Medián relativního počtu monocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)



C

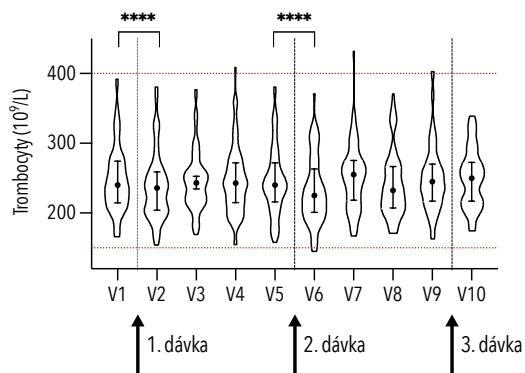


Trombocyty

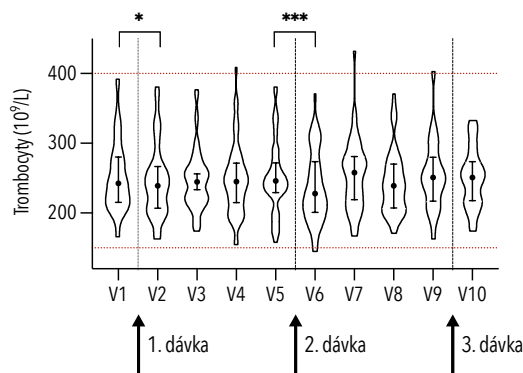
Normální rozmezí hodnot počtu trombocytů byl $150\text{--}400 \times 10^9/\text{L}$. Krevní destičky se významně snížily po první dávce mRNA-vakcín z 240 na $236 \times 10^9/\text{L}$ a po druhé dávce z 240 na $230 \times 10^9/\text{L}$. Zaznamenané snížení nevedlo k překročení spodní meze normálních hodnot, proto nebylo klinicky relevantní. Navíc tento úbytek trombocytů bezprostředně po očkování byl jen krátkodobý, jak dokumentovaly jejich počty stanovené déle než sedm dní po očkování. Pokles počtu trombocytů byl zjištěn jak u imunitně naivních, tak u primoinfikovaných (graf 10).

Graf 10: Medián absolutního počtu trombocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)

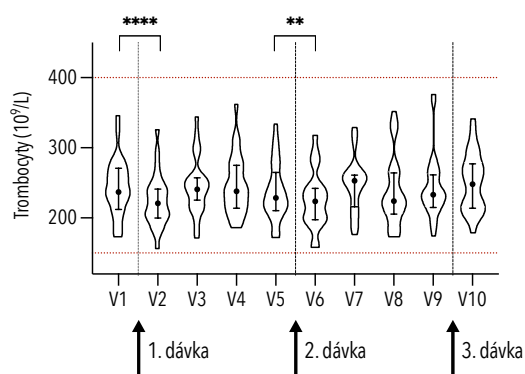
A



B



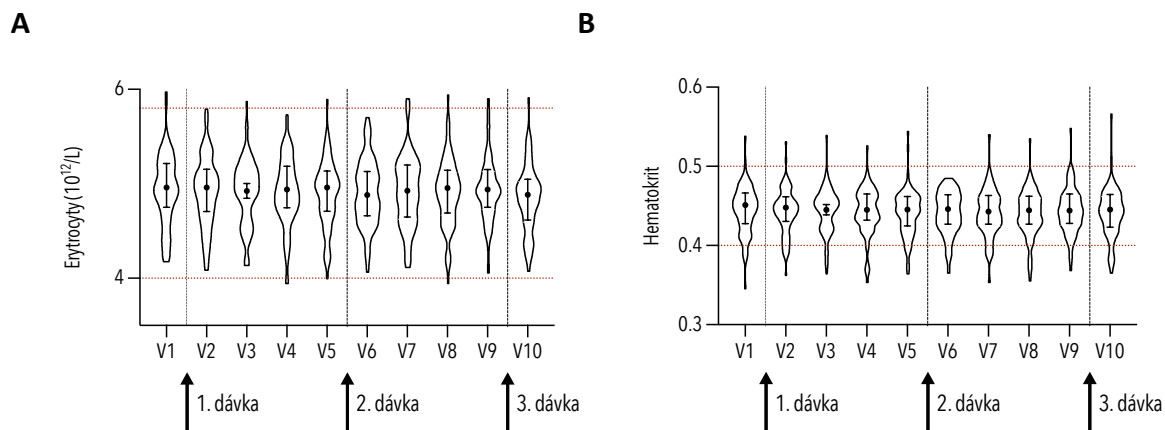
C



Erytrocyty a hematokrit

Normální rozmezí absolutního počtu erytrocytů bylo $4\text{--}5,8 \times 10^{12}/\text{L}$ a hematokritu $0,4\text{--}0,5$. Počet erytrocytů ani hematokrit se během očkování i po něm neměnily oproti stavu před očkováním (graf 11).

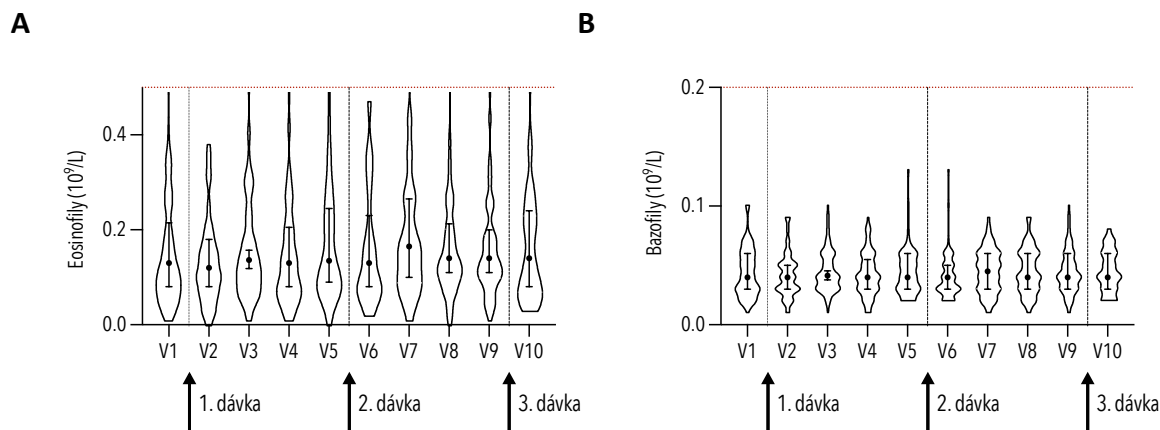
Graf 11: Medián absolutního počtu erytrocytů (A) a hematokritu (B) po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru



Eozinofily a bazofily

Absolutní počty eozinofilů a bazofilů se během studijního sledování neměnily a zůstaly v rozmezí normálních hodnot do $0,5 \times 10^9/\text{L}$ pro eozinofily a do $0,2 \times 10^9/\text{L}$ pro bazofily (graf 12).

Graf 12: Medián absolutního počtu eozinofilů (A) a bazofilů (B) po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru



Tabulka 11: Přehled výsledků krevního obrazu; medián absolutních počtů, včetně interkvartilového rozpětí

Návštěva	Medián absolutního počtu (IQR)							
	Leukocyty ($\times 10^9/L$)	Lymfocyty ($\times 10^9/L$)	Neutrofily ($\times 10^9/L$)	Monocyty ($\times 10^9/L$)	Trombocyty ($\times 10^9/L$)	Erytrocyty ($\times 10^{12}/L$)	Eozinofily ($\times 10^9/L$)	Bazofily ($\times 10^9/L$)
V1	6,2 (2,1)	2,0 (0,7)	3,4 (1,4)	0,54 (0,19)	240 (60)	5,0 (0,5)	0,13 (0,14)	0,04 (0,03)
V2	6,0 (1,7)	1,8 (0,8)	3,1 (1,3)	0,65 (0,27)	236 (55)	5,0 (0,5)	0,12 (0,10)	0,04 (0,02)
V3	6,1 (1,5)	2,1 (0,7)	3,1 (1,1)	0,50 (0,15)	243 (44)	5,0 (0,5)	0,14 (0,12)	0,04 (0,03)
V4	6,1 (1,8)	2,0 (0,7)	3,4 (1,1)	0,53 (0,17)	243 (57)	4,9 (0,4)	0,13 (0,13)	0,04 (0,03)
V5	6,1 (1,5)	2,1 (0,7)	3,4 (1,2)	0,55 (0,23)	240 (56)	5,0 (0,4)	0,14 (0,16)	0,04 (0,03)
V6	5,8 (1,4)	1,6 (0,7)	3,3 (1,4)	0,65 (0,25)	225 (62)	4,9 (0,5)	0,13 (0,15)	0,04 (0,02)
V7	6,2 (1,4)	2,1 (0,6)	3,3 (1,1)	0,54 (0,14)	255 (57)	4,9 (0,6)	0,17 (0,17)	0,05 (0,03)
V8	6,2 (1,8)	2,0 (0,7)	3,1 (1,3)	0,56 (0,20)	233 (59)	5,0 (0,5)	0,14 (0,10)	0,04 (0,03)
V9	6,1 (1,8)	2,1 (0,8)	3,4 (1,2)	0,56 (0,19)	245 (53)	4,9 (0,4)	0,14 (0,09)	0,04 (0,03)
V10	6,1 (1,7)	2,0 (0,7)	3,2 (1,1)	0,55 (0,22)	250 (56)	4,9 (0,4)	0,14 (0,16)	0,04 (0,03)

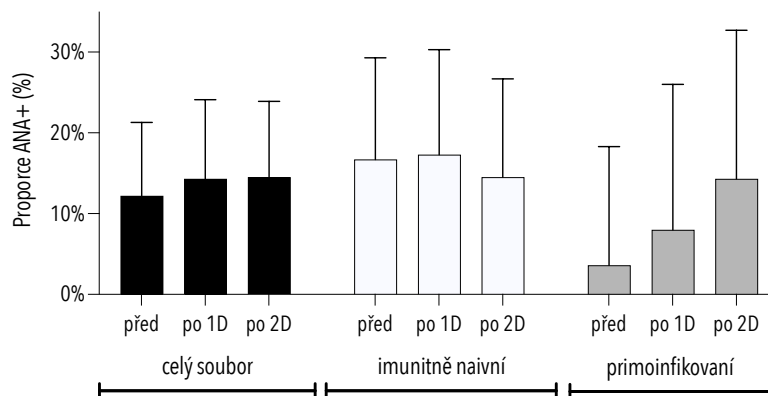
5.5. Autoprotilátky

Autoprotilátky ANA a ANCA

Před očkováním byla pozitivita autoprotilátek ANA zaznamenána u 10 (12,2 %) účastníků, mezi nimiž byli dva s poruchou štítné žlázy. Po očkování první dávkou byla detekována pozitivita u 11 (14,3 %) účastníků a po druhé dávce mRNA-vakcíny u 12 (14,5 %) subjektů ve studii. Celkem osm subjektů mělo pozitivitu autoprotilátek ANA potvrzenou před očkováním a po očkování jednou dávkou a šest subjektů si tuto pozitivitu uchovalo také po očkování druhou dávkou mRNA-vakcín. Nově zjištěná pozitivita autoprotilátek ANA byla dokumentována u tří subjektů po první dávce a u šesti subjektů po druhé dávce. Nebyl zjištěn významný rozdíl ANA-pozitivity u imunitně naivních a primoinfikovaných po očkování jak první, tak druhou dávkou mRNA-vakcín (graf 13).

Přítomnost autoprotilátek ANCA nebyla odhalena u žádného účastníka jak před očkováním, tak po očkování první a druhou dávkou mRNA-vakcín.

Graf 13: Přehled proporcí ANA-pozitivních účastníků v celém souboru a podle imunitního stavu před očkováním

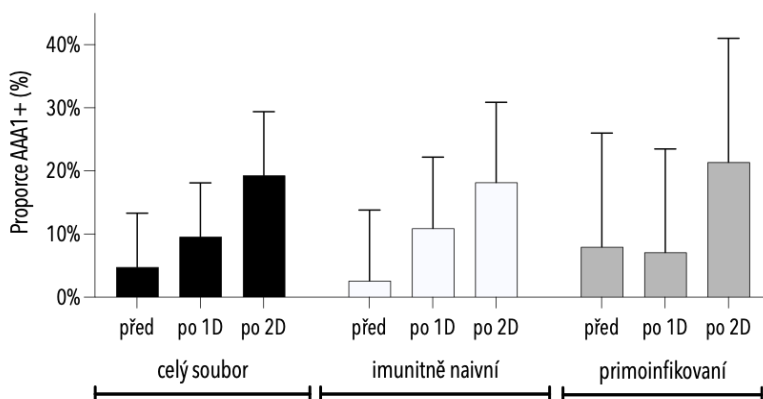


Autoprotilátky AAA1

Celková kumulativní míra AAA1-pozitivity dosáhla 24,1 % (95% CI: 15,4 až 34,7 %), tj. 20 subjektů mělo alespoň jeden pozitivní vzorek séra během studijního sledování, tj. $16,4 \pm 2,3$ týdne po zahájení očkování. Tato zjištěná míra byla prokazatelně významná, protože byla větší než 10 % se silou testu > 85 % na celém studijním souboru, tj. velikost vzorku studie byla pro tento nález dostatečná.

Opakovaná AAA1+ po očkování byla zjištěna u tří účastníků. Naopak pozitivita před očkováním a po něm byla pozorována pouze u jednoho subjektu. Před očkováním byla pozitivita zjištěna u tří subjektů. Míra AAA1+ na celém souboru dosáhla po první dávce mRNA-vakcín 9,6 % (95% CI: 4,3–18,1 %) a po druhé dávce 19,3 % (95% CI: 11,4 až 29,4 %). Oproti pozitivitě před očkováním došlo ke statisticky významnému nárůstu po druhé dávce mRNA-vakcín ($p = 0,012$). Vzhledem k tomu, že míra AAA1+ byla po očkování kumulativně hodnocena v delším období, bylo třeba hodnotit vliv očkování na základě incidenční míry AAA1+. Ta u očkovanych jednou dávkou dosahovala 2,7 případu na 1 000 osobodnů a u očkovanych dvěma dávkami 2,3 případu na 1 000 osobodnů. Poměr incidenčních měr 0,87 (95% CI: 0,33–2,44) nenaznačil žádný statisticky významný nárůst incidence AAA1+ po druhé dávce oproti první dávce. Proto očkování proti COVID-19 nezvyšovalo incidenční míru AAA1-pozitivity. Podobně nebyl prokázán žádný statisticky významný rozdíl míry AAA1+ mezi očkovanými v závislosti na předešlé primoinfekci a počtu podaných dávek ($p = 0,355$) (graf 14).

Graf 14: Přehled proporcí AAA1-pozitivních účastníků v celém souboru a podle imunitního stavu před očkováním



Logistická regrese AAA1-pozitivity zahrnující faktory pohlaví, věk (dichotomicky rozdělený podle mediánu věku 42,4 roku), BMI (dichotomicky rozdělený podle mediánu BMI 26 kg/m²), souběžné onemocnění, předešlé onemocnění COVID-19 a pozitivitu autoprotilátek ANA před očkováním ukázala její asociaci s vyšším BMI a s přítomností autoprotilátek ANA. Přehled hrubých i adjustovaných OR je uveden v tabulce 12. V grafu 15 je dokumentována zvýšená AAA1-pozitivita s ohledem na zkoumaný faktor.

Pozitivní hladiny AAA1 IgG byly častěji zjištěny u subjektů s BMI > 26 kg/m² než u subjektů s nižším BMI, jak dokládá aOR 6,79 (95% CI: 1,53–30,01). Analýza senzitivity potvrdila, že míra AAA1+ 28,9 % (95% CI: 15,4–45,9 %) u 38 subjektů s nadváhou s BMI 25 až 30 kg/m² ($p = 0,020$) a 46,7 % (95% CI: 21,3–73,4 %) u 15 obézních subjektů s BMI > 30 kg/m² ($p = 0,002$) byla významně vyšší než u 6,7 % (95% CI: 0,8–22,1 %) u 30 účastníků s normální tělesnou hmotností BMI < 25 kg/m².

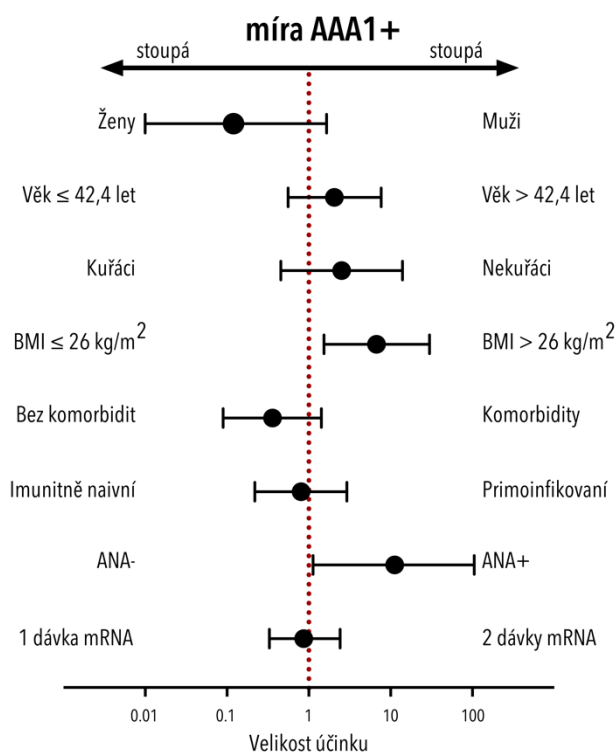
Celkem 10 subjektů s ANA-protilátkami detekovanými před očkováním dosáhlo míry AAA1+ 40,0 % (95% CI: 12,2–73,8 %) ve srovnání s 21,9 % (95% CI: 13,1–33,1 %) u osob s absencí ANA-autoprotilátek. Adjustovaný poměr šancí aOR 0,10 (95% CI: 0,01–0,93) naznačoval případnou asociaci ($p = 0,043$).

Tabulka 12: Asociace míry AAA1+ se zkoumanými faktory; hrubý a adjustovaný poměr šancí, včetně 95% intervalu spolehlivosti

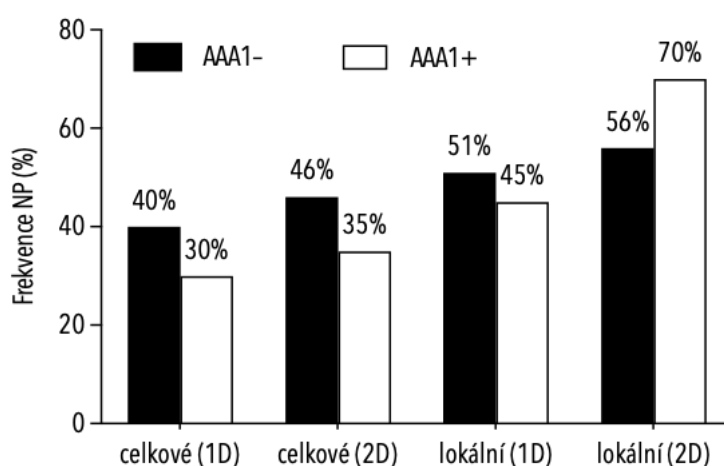
Prediktor		Počet subjektů	AAA1+ (%)	cOR (95% CI)	aOR (95% CI)	P
Pohlaví	Muž	69	27,5	ref	ref	
	Žena	14	7,1	0,20 (0,03–1,66)	0,12 (0,01–1,66)	n. s.
Věk (roky)	≤42,4	42	21,4	ref	ref	
	>42,4	41	26,8	1,34 (0,49–3,69)	2,07 (0,56–7,66)	n. s.
Kuřák	Ano	15	13,3	ref	ref	
	Ne	68	27,9	2,34 (0,48–11,4)	2,53 (0,46–13,96)	n. s.
BMI (kg/m ²)	≤26	42	9,5	ref	ref	
	>26	41	39,0	6,08 (1,82–20,3)	6,79 (1,53–30,01)	0,012
Souběžné nemoci	Ano	18	38,9	ref	ref	
	Ne	65	20,0	0,39 (0,13–1,21)	0,36 (0,09–1,43)	n. s.
Primoinfekce	Ano	28	25,0	ref	ref	
	Ne	55	23,6	0,93 (0,32–2,67)	0,81 (0,22–2,92)	n. s.
ANA+ před očkováním	Ano	10	40,0	ref	ref	
	Ne	73	21,9	0,42 (0,11–1,68)	0,10 (0,01–0,93)	0,043

Míra AAA1+ nebyla ve vztahu s protilátkami anti-S IgG indukovanými očkováním. Jedinci s pozitivními AAA1-protilátkami totiž dosáhli podobných hladin protilátek anti-S IgG jako účastníci bez AAA1-pozitivity, tj. 3 900 BAU/mL u subjektů AAA1+ a 3 000 BAU/mL u subjektů AAA1- po první dávce ($p = 0,55$), a 7 900 BAU/mL pro AAA1+ a 8 100 BAU/mL pro subjekty AAA1-zhruba 2,5 měsíce po podání druhé dávky ($p = 0,96$). Kromě toho míra AAA1+ nesouvisela ani s lokálními (bolest, otok nebo erytém v místě vpichu), ani se systémovými nežádoucími účinky (bolesti hlavy, artralgie, myalgie, zimnice, únava nebo lymfadenopatie) zaznamenanými po první i druhé dávce vakcíny, jak dokumentovala jejich frekvence v obou skupinách (graf 16).

Graf 15: Vliv zkoumaných faktorů na míru AAA1+



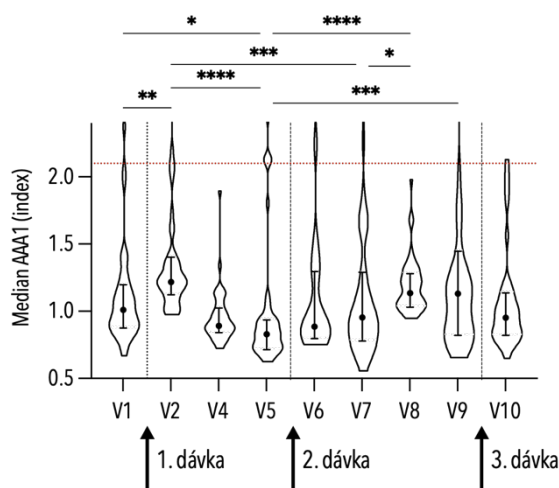
Graf 16: Frekvence nežádoucích příhod po první a druhé dávce u účastníků AAA1+ a AAA1-



Medián hladin AAA1 IgG se během sledování pohyboval mezi 0,85–1,21, aniž by překročil hranici séropozitivity. I když v celém souboru byl pozorován významný nárůst hladin AAA1 IgG po podání první dávky mRNA-vakcín, podání druhé dávky nevedlo k jejich významné změně. Během studijního sledování byla pozorována variabilita hladin těchto protilátek, jejichž medián nepřekročil mez pozitivitu (graf 17).

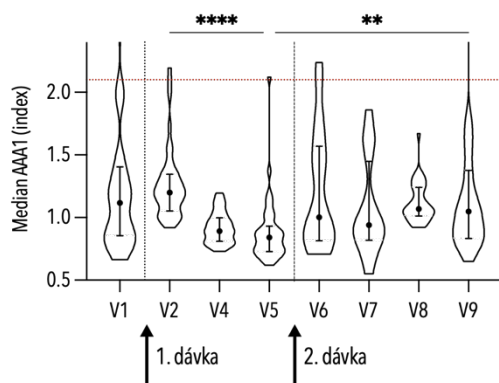
Hladiny AAA1 IgG u účastníků s BMI ≤ 26 kg/m² se mezi oběma dávkami vakcíny snížily z 1,12 na 0,84 (graf 18). Naopak medián IgG u subjektů s BMI > 26 kg/m² se významně zvýšil z 0,96 na 1,27 během prvních dvou dní po první dávce vakcíny a posléze se vrátil na úroveň před očkováním, tj. 0,89. Hladiny AAA1 IgG se za 2,5 měsíce sledování významně nelišily oproti těm před očkováním nezávisle na účastnících rozdělených podle mediánu BMI. Vysoká variabilita hladin AAA1 IgG, vyjádřená IQR: 0,84–2,07, byla pozorována u subjektů s BMI > 26 kg/m².

Graf 17: Hladiny AAA1 IgG v celém souboru, včetně dosledování do jednoho roku (V10)

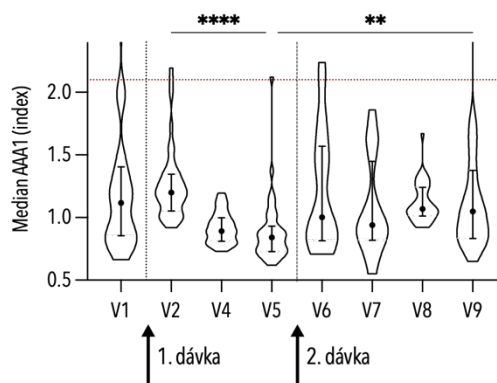


Graf 18: Hladiny AAA1 IgG u účastníků s BMI ≤ 26 kg/m² (A) a s BMI > 26 kg/m² (B)

A



B



* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$

Tabulka 13: Přehled mediánu hladin AAA1-protilátek očkováním mRNA-vakcínami a po něm, medián, včetně interkvartilového rozpětí

Návštěva	Medián AAA1 (IQR)				
	Všichni	BMI ≤ 26 kg/m ²	BMI > 26 kg/m ²	Imunitně naivní	Primoinfikovaní
V1	1,02 (0,36)	1,12 (0,55)	0,96 (0,26)	0,93 (0,31)	1,07 (0,37)
V2	1,21 (0,33)	1,20 (0,29)	1,27 (0,37)	1,21 (0,48)	1,22 (0,25)
V4	0,91 (0,17)	0,89 (0,19)	0,94 (0,18)	0,89 (0,26)	0,89 (0,17)
V5	0,85 (0,25)	0,84 (0,20)	0,89 (0,34)	0,83 (0,37)	0,84 (0,18)
V6	0,95 (0,66)	1,00 (0,76)	0,91 (0,54)	0,95 (0,51)	0,88 (0,54)
V7	0,96 (0,44)	0,94 (0,63)	0,97 (0,38)	0,97 (0,82)	0,91 (0,43)
V8	1,13 (0,23)	1,07 (0,23)	1,20 (0,24)	1,20 (0,27)	1,13 (0,23)
V9	1,12 (0,89)	1,05 (0,54)	1,20 (1,23)	1,10 (0,44)	1,19 (0,90)

5.6. Sérologie IgG anti-S

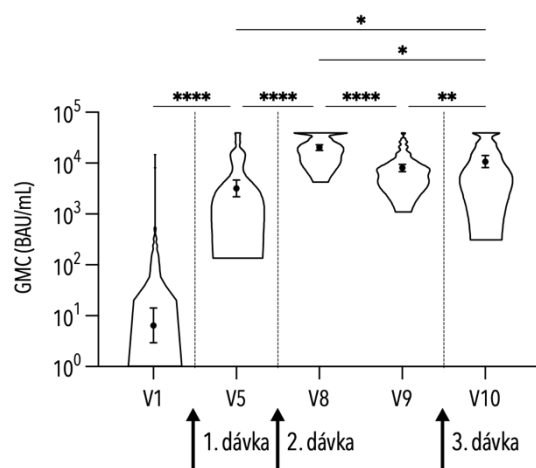
První i druhé očkování zajistilo indukci IgG protilátek specifických proti S-proteinu (anti-S). Zatímco první dávka do zhruba čtyř týdnů indukovala hladinu protilátek vyjádřenou geometrickým průměrem koncentrací (GMC) 3 200 BAU/mL (95% CI: 2 200–4 600 BAU/mL), očkování druhou dávkou zvýšilo tyto hladiny až na GMC = 20 300 BAU/mL (95% CI: 17 900 až 23 100 BAU/mL) o zhruba dva týdny později. Hladiny protilátek však dále významně klesly za asi 2,5 měsíce, tj. GMC = 8 000 BAU/mL (95% CI: 6 800–9 500 BAU/mL).

Poslední odběr ukázal opětovný nárůst těchto hladin, jak dokumentoval GMC = 10 700 BAU/mL (95% CI: 8 100–14 200 BAU/mL). Vývoj hladin protilátek znázorněn v grafu 19. Uvedený nárůst byl způsoben očkováním třetí dávkou a průlomovou infekcí (graf 20). Průlomové infekce zvýšily hladiny protilátek na 13 600 BAU/mL (95% CI: 8 400 až 22 000 BAU/mL) u očkovanych dvěma dávkami a na 22 500 BAU/mL (95% CI: 13 300 až 37 900 BAU/mL) u očkovanych třemi dávkami mRNA-vakcín. Zvýšení nevykazovalo závislost na počtu podaných dávek, protože nebyl mezi oběma GMC statisticky významný rozdíl.

Samotná aplikace posilující dávky u subjektů bez průlomové infekce zvýšila GMC na 14 400 BAU/mL (95% CI: 8 400–24 800 BAU/mL) u původně imunitně naivních a na 10 800 BAU/mL (95% CI: 6 900–16 900 BAU/mL) u primoinfikovaných před zahájením očkování. Toto zvýšení se mezi oběma skupinami také významně nelišilo.

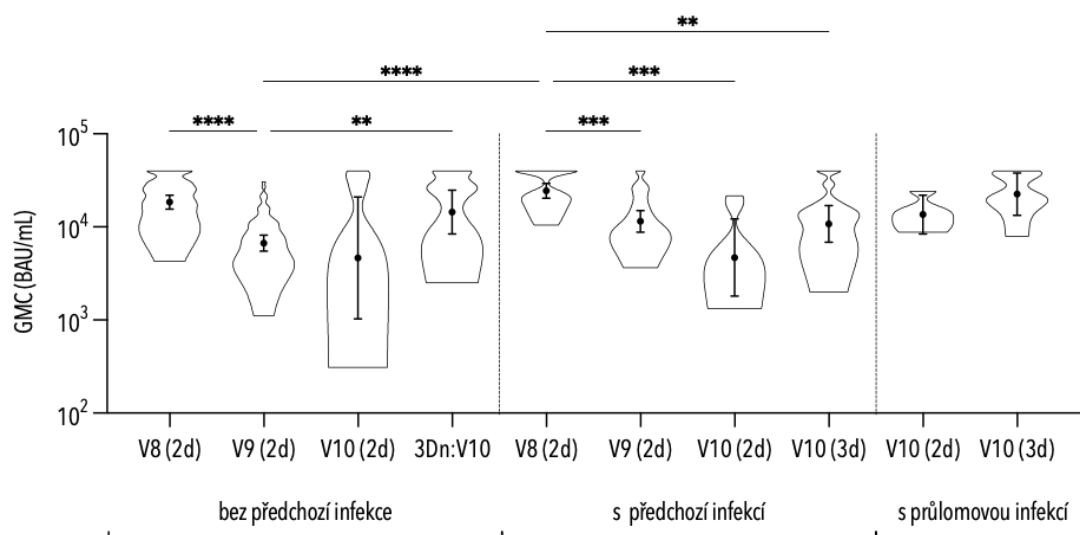
Naopak u účastníků bez posilující dávky nebo průlomové infekce došlo k dalšímu významnému poklesu hladin protilátek anti-S, jak ukázaly GMC = 4 600 BAU/mL (95% CI: 1 000–20 900 BAU/mL) u původně imunitně naivních a GMC = 4 700 BAU/mL (95% CI: 1 800 až 12 200 BAU/mL) u primoinfikovaných před očkováním, které se vzájemně statisticky významně nelišily.

Graf 19: Vývoj GMC anti-S IgG protilátek v celém studijním souboru



* $p < 0,5$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$

Graf 20: Geometrické průměry koncentrací anti-S IgG protilátek v závislosti na délce doby po očkování, průlomové infekci a posilující dávce u primoinfikovaných a imunitně naivních účastníků studie



2d – 2 dávky, 3d – 3 dávky, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$

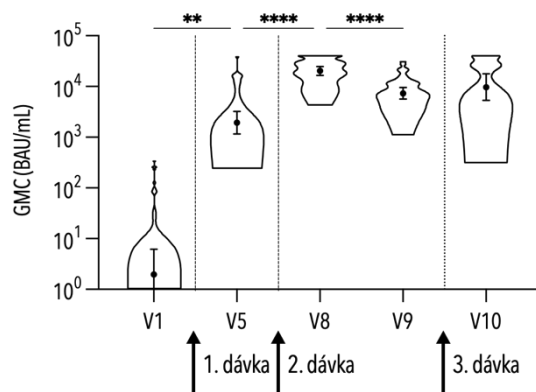
Postvakační odpověď a její perzistence podle imunitního stavu před očkováním

Před zahájením očkování byl GMC anti-S IgG protilátek 2,0 u imunitně naivních jedinců, zatímco primoinfikovaní účastníci dosahovali koncentrace GMC = 88 BAU/mL (95% CI: 34 až 230 BAU/mL).

I když první dávka očkování indukovala protilátky anti-S u všech účastníků, významně vyšších hladin dosáhli jedinci ($p < 0,0001$), kteří prodělali onemocnění COVID-19 před zahájením očkování (GMC = 15 000 BAU/mL; 95% CI: 10 000–22 500 BAU/mL) než imunitně naivní jedinci (GMC = 1 900 BAU/mL (95% CI: 1 200–3 200 BAU/mL)). Podáním druhé dávky se rozdíl mezi oběma skupinami srovnal a byl bez statisticky významných odchylek ($p = 0,183$), tj. GMC = 24 400 BAU/mL (95% CI: 20 400–29 300 BAU/mL) u primoinfikovaných a GMC = 20 300 BAU/mL (95% CI: 16 500–24 900 BAU/mL) u imunitně naivních účastníků.

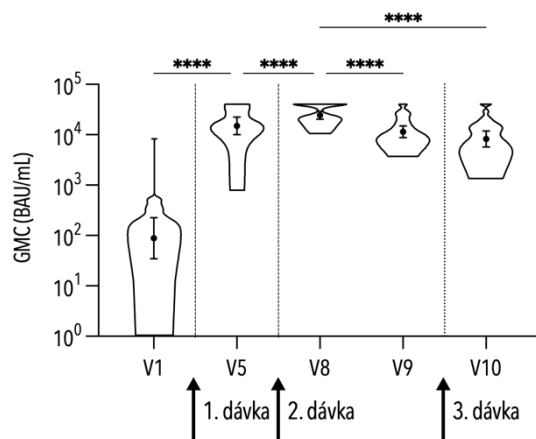
O zhruba 2,5 měsíce později po dokončeném plném očkování došlo v obou skupinách k poklesu hladin těchto protilátek na 11 500 BAU/mL (95% CI: 8 800 až 15 000 BAU/mL) u primoinfikovaných a na 7 300 BAU/mL (95% CI: 5 600–9 600 BAU/mL) u původně imunitně naivních subjektů. Mezi oběma hodnocenými skupinami byl dosažen statisticky významný rozdíl ve prospěch primoinfikovaných ($p = 0,0196$). Sérologický výsledek posledního odebraného séra zhruba 310 dní po dokončeném dvoudávkovém očkování byl závislý na případné průlomové infekci nebo posilujícím očkování, jak bylo již dříve uvedeno (grafy 21 a 22).

Graf 21: Vývoj GMC anti-S IgG protilátek u imunitně naivních jedinců



** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$

Graf 22: Vývoj GMC anti-S IgG protilátek u primoinfikovaných jedinců



**** $p < 0,0001$

Tabulka 14: Přehled GMC IgG anti-S v celém souboru a v podskupinách podle imunitního stavu před očkováním

Návštěva	GMC (95% CI)		
	Všichni	Imunitně naivní	Primoinfikovaní
V1	6 (3–14)	2 (1–6)	88 (34–226)
V5	3 185 (2 188–4 637)	1 942 (1 166–3 235)	15 024 (10 021–22 525)
V8	20 328 (17 870–23 124)	20 251 (16 497–24 860)	24 413 (20 361–29 273)
V9	8 016 (6 797–9 455)	7 340 (5 641–9 552)	11 467 (8 792–14 955)
V10	10 728 (8 121–14 171)	9 729 (5 324–17 779)	8 275 (5 718–11 975)

5.7. Průlomové infekce

Průlomové infekce byly zaznamenány u 22 subjektů výhradně po návštěvě V9, tj. mezi 9. a 10. návštěvou. Tři účastníci, kteří byli před očkováním imunitně naivní, se nakazili variantou Delta v období od 12. do 21. listopadu 2021. V tomto období nebyla zaznamenána žádná reinfekce u původně primoinfikovaných. Odhad účinnosti dvoudávkového očkování, který byl získán z poměru šancí (OR) při předpokladu kontrolní neočkované skupiny před započítáním této kohortové studie, tj. 28 primoinfikovaných z 83 neočkovaných subjektů, byl 88,7 % (95% CI: 60,5–96,8 %) pro výhradně očkované a 96,6 % (95% CI: 42,0–99,8 %) pro očkované s předchozí infekcí SARS-CoV-2.

Z celkem 16 původně imunitně naivních účastníků se šest nakazilo po druhé dávce a 10 po třetí dávce v období šíření varianty Omikron, tj. mezi 18. lednem až 3. dubnem 2022. Pouze u tří primoinfikovaných, kteří podstoupili úplné očkování dvěma dávkami mRNA-vakcín, došlo k reinfekci ve stejném období. Odhad účinnosti dvoudávkového očkování proti infekci způsobené variantou Omikron byl 74,4 % (95% CI: 32,8–90,2 %) u imunitně naivních a 76,4 % (95% CI: 15,1–93,5 %) u původně primoinfikovaných. Jedna posilující dávka zvýšila ochranu u primoinfikovaných na 93,7 % (95% CI: -8,8–99,7 %), ale nezvýšila ochranu u imunitně naivních, tj. 32,3 % (95% CI: -58,6–71,1 %).

Průměrná doba průlomové infekce od poslední druhé dávky byla 199 ± 46 dní a od poslední třetí dávky 62 ± 31 dní. Plně očkovaní účastníci měli hladiny protilátek specifických proti S-proteinu v rozsahu 3 400 až 7 400 BAU/mL, tj. GMC = 4 700 BAU/mL (95% CI: 1 700 až 12 900 BAU/mL) 21–85 dní (průměr 60 ± 34 dní) před průlomovou infekcí způsobenou variantou Delta, která byla zaznamenána v období 105–151 dní po druhé dávce. K průlomové infekci variantou Omikron došlo u subjektů v období 201–266 dní po podání druhé dávky mRNA-vakcín, jejichž hladiny specifických protilátek anti-S byly v rozsahu 3 300 až 9 500 BAU/mL, tj. GMC = 5 200 BAU/mL (95% CI: 3 300–8 200 BAU/mL) 129 až 203 dní (průměr 157 ± 30 dní) před touto infekcí.

Hladiny protilátek před průlomovou infekcí u očkovaných třetí dávkou nebyly známy, protože v této studii nebyla plánována dynamika vývoje protilátek po aplikaci třetí dávky.

6. DISKUZE

Hlavní zjištění

Primárním cílem této studie byla bezpečnost očkování proti COVID-19 prováděného výhradně mRNA-vakcínami, které byly celosvětově zaváděny a byly upřednostňovány zejména v evropských zemích i v zemích Severní Ameriky.

Frekvence jakékoli nežádoucí příhody byla dokumentována u 71,1 % účastníků po první dávce a u 85,5 % účastníků po druhé dávce. Zatímco jejich frekvence po druhé dávce stoupla, po třetí – posilující – dávce byly nežádoucí příhody zaznamenány jen u 21 % vojáků. Tento významný pokles vyplýval z metody měření postvakcinačních reakcí. Účastníci byli na svůj zdravotní stav dotazováni krátce jeden až tři dny a opakovaně následujících šest až devět dní po aplikaci první a druhé dávky. To přispívalo k věrohodnějšímu záznamu skutečných reakcí po očkování. Naopak výpověď účastníků zaměřená na nežádoucí příhody po očkování třetí dávkou byla skutečně zhruba 106 dní po její aplikaci. Díky tomu mohla být informace zatížena informačním zkreslením v důsledku toho, co si účastník v té době pamatoval. Zdálnivě nižší procentuální výskyt nežádoucích příhod uváděný po booster-dávce představoval relativně vysokou míru response těch, kteří si reakci pamatovali ještě asi po třech měsících.

Nejčastější reakce po očkování měly lokální charakter, z nichž převažovala bolest ramene, do kterého byla vakcína podána. Celkové reakce účastníci zaznamenávali méně než lokální, tj. alespoň jednu celkovou reakci zaznamenalo 43,4 % z nich. Dominovaly únava (22 %), bolest hlavy (16 %) a zimnice (15 %) nezávisle na počtu podaných dávek v rámci úplného očkování. Únava, která převažovala mezi celkovými reakcemi po první nebo druhé dávce mRNA-vakcín, byla také nejčastěji uváděnou po podání třetí, tj. posilující dávky (11 % účastníků).

Zatímco lokální reakce nevykazovaly významný rozdíl ve výskytu u imunitně naivních a předešle infikovaných, celkové reakce byly čtenější u primoinfikovaných po první dávce mRNA. Ti častěji zaznamenávali únavu (25 %), zimnici (25 %), bolest hlavy (15 %) a bolest svalů (11 %) nebo kloubů (7 %). Po aplikaci druhé dávky u primoinfikovaných setrvala zvýšená četnost únavy (25 %) a bolest kloubů (11 %) oproti imunitně naivním.

Krevní obraz byl použit ke sledování případných výchylek některých krevních elementů bezprostředně (několik málo dní) po očkování první nebo druhou dávkou stejně jako v delším horizontu několika týdnů až měsíců. Ukázalo se, že lymfocyty a leukocyty vykazovaly přechodné bezprostřední snížení dokumentované do jednoho až tří dní po očkování jak první, tak druhou dávkou mRNA-vakcín. Nicméně do jednoho týdne se vrátily na původní hodnoty před očkováním, kde setrvaly minimálně první tři měsíce sledování.

Zajímavým zjištěním byla skutečnost, že počty leukocytů se u imunitně naivních během sledování neměnily. Naopak u předešle infikovaných SARS-CoV-2 se jejich počty vždy bezprostředně po očkování snížily, a to nezávisle na počtu podaných dávek. Počty lymfocytů se přechodně krátkodobě snižovaly u všech účastníků bez ohledu na jejich předchozí imunitu specifickou proti SARS-CoV-2.

Mírný pokles byl také zjištěn v počtu neutrofilů, a to zejména po první dávce u imunitně naivních. Druhá dávka aplikované vakcíny pak vedla ke snížení počtu neutrofilů u primoinfikovaných.

Významný nárůst po očkování byl dokumentován v počtu monocytů, a to jak u imunitně naivních, tak primoinfikovaných. Podobně jako u lymfocytů a leukocytů byla zjištěna změna

počtu monocytů jen přechodně a krátkodobě. Pokles leukocytů a vzestup monocytů byl potvrzen také na relativních počtech monocytů, jejichž průměrný relativní počet do jednoho až tří dní po očkování překročil mez normálních hodnot 0,12.

Očkování působilo na počet trombocytů, který se po aplikaci jak první, tak druhé dávky mRNA-vakcín významně snížil u obou imunitně odlišných skupin účastníků, tj. imunitně naivních a předešle infikovaných. Tato změna byla opět bezprostřední a krátkodobá, protože do jednoho týdne po očkování měli všichni účastníci počty krevních destiček na úrovni před očkováním a během dalšího sledování se dále neměnily.

Uvedené změny zmíněných krevních elementů byly pozorovány v rozsahu normálních hodnot. Proto nebylo možné předpokládat nějaký klinický dopad na očkované. Ostatní krevní elementy, jako počty erytrocytů, bazofilů nebo eozinofilů, nebyly očkováním nikterak ovlivněny a setrvaly na počtech srovnatelných se stavem před očkováním.

V této studii jsme se zaměřili na běžně vyšetřované antinukleární a antineutrofilní cytoplasmatické autoprotilátky. Autoprotilátky ANA byly detekovány u osmi účastníků před zahájením očkování. Nově se objevily u tří subjektů do čtyř týdnů po první dávce a u šesti subjektů do tří měsíců po druhé dávce. Jejich přítomnost nebyla ovlivněna imunitním stavem před očkováním a zjištěný počet nově ANA-pozitivních jedinců se významně nelišil oproti jejich počtu před očkováním. Během celého sledování nebyla detekována přítomnost protilátek ANCA u žádného účastníka. Pravděpodobnost, že by mRNA-očkování zvyšovalo pozitivitu obou těchto typů autoprotilátek, je možné zanedbat.

Autoprotilátky proti apolipoproteinu A-1 byly vybrány na základě literární inspirace z nových studií, které poukázaly na jejich možnou asociaci s infekcí a očkováním. Celková kumulativní míra AAA1-pozitivity dosahovala 24,1 % během celého studijního sledování zhruba 16 týdnů, kdy 20 subjektů mělo alespoň jeden vzorek séra pozitivní na tyto autoprotilátky. Zjištěná pozitivita byla s výjimkou tří subjektů odhalena jen v jednom vzorku.

Zda tato míra positivity mohla souviset s mRNA-očkováním, nebylo možné přímo ověřit z důvodu absence kontrolní neočkované skupiny. Přesto incidence AAA1-pozitivity u očkovaných první dávkou (2,7 případu na 1 000 osobodnů) a očkovaných druhou dávkou (2,3 případu na 1 000 osobodnů) nenaznačila žádnou asociaci s mRNA-očkováním. Ani komerční typ vakcíny BNT162b2 nebo mRNA-1273 neovlivnil míru positivity těchto autoprotilátek. Podobně nebyla také zjištěna žádná korelace mezi postvakcinačními protilátkami specifickými proti S-proteinu a AAA1-autoprotilátkami. Četnost nežádoucích příhod lokálního i celkového charakteru byla zaznamenávána ve stejné míře jak u AAA1-negativních, tak pozitivních účastníků.

Testování několika základních demografických, behaviorálních a zdravotních faktorů ukázalo, že zvýšená míra AAA1+ byla podmíněna BMI a přítomností autoprotilátek ANA před očkováním. Zatímco šanci AAA1+ zvyšovala přítomnost protilátek ANA jen mírně (více než 2×), BMI tuto šanci zvyšovalo až 6,8×. S rostoucím BMI se pozitivita těchto autoprotilátek dále zvyšovala, jak se ukázalo u 47 % jedinců s obezitou ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$), kteří měli detekovanou AAA1-pozitivitu v alespoň jednom vzorku, zatímco jen 6,7 % účastníků s normální tělesnou hmotností mělo aspoň v jednom vzorku prokázanu pozitivitu AAA1-autoprotilátek.

Míra AAA1-pozitivity nebyla ovlivněna infekcí SARS-CoV-2, protože žádný z účastníků neměl dokumentovanou žádnou infekci SARS-CoV-2 během studijního období hodnocení míry AAA1+, tj. zhruba čtyři měsíce od zahájení očkování.

Sekundárním cílem této studie bylo hodnocení dynamiky vývoje postvakcinačních protilátek anti-S IgG. Očkování jednou dávkou vedlo do čtyř týdnů k dosažení hladin 3 200 BAU/mL. Ty

byly významně vyšší u primoinfikovaných (15 000 BAU/mL), protože jedna dávka posílila přirozeně získanou imunitu. Zhruba do dvou týdnů po úplném očkování se koncentrace protilátek dále zvýšily až na 20 300 BAU/mL a koncentrace se mezi primoinfikovanými a imunitně naivními výrazně nelišily. Perzistence takto vysokých hladin vyvolaných plným očkováním mRNA-vakcínami se neuchovala a do 2,5 měsíce po druhé dávce se snížily na 7 300 BAU/mL u imunitně naivních a 11 500 BAU/mL u primoinfikovaných. Do zhruba 10 měsíců se dále snížily na koncentraci 4 600 BAU/mL shodně jak u primoinfikovaných, tak imunitně naivních. Pokud účastníci podstoupili posilující, tj. v pořadí třetí dávku, koncentrace anti-S-protilátek se znovu zvýšily na 14 400 BAU/mL (imunitně naivní) a 10 800 BAU/mL (primoinfikovaní). Před poslední návštěvou ve studii byla dokumentována průlomová infekce u některých účastníků. Ta zvýšila hladiny anti-S-protilátek na 13 600 BAU/mL po předešlém plném očkování a na 22 500 BAU/mL po předchozím posilujícím očkování.

Celkem 22 subjektů mělo průlomovou infekci po úplném nebo posilujícím očkování. Zdá se, že předešlá infekce SARS-CoV-2 v kombinaci s očkováním zajišťovala vyšší protektivní účinnost, protože nikdo z těchto účastníků se nenakazil variantou Delta a potvrzená nákaza variantou Omikron byla jen u tří z nich. Zbývajících 19 subjektů s průlomovou infekcí bylo před očkováním imunitně naivních. Plné očkování je chránilo odhadem z 89 % proti infekci způsobené variantou Delta a ze 74 % před variantou Omikron. Přidáním posilující dávky se u nich ochranný efekt nezvýšil (32% účinnost). Hladiny protilátek jedinců s průlomovou infekcí způsobenou variantou Delta byly nižší než 7 400 BAU/mL průměrně 60 dní před onemocněním COVID-19. Podobně ti, kdo měli průlomovou infekci variantou Omikron, dosahovali maximální hladiny anti-S-protilátek 9 500 BAU/mL zhruba 157 dní před infekcí. Je ale pravděpodobné, že bezprostředně před průlomovými infekcemi byly jejich anti-S-koncentrace nižší. Proto je velmi obtížné zhodnotit riziko průlomových infekcí při takto vysokých hladinách protilátek stanovených déle než dva měsíce před COVID-19.

Výsledky v kontextu stávajících poznatků

Bezpečnost úplného očkování dvěma dávkami mRNA-vakcín vedená na základě záznamu četnosti lokálních a celkových reakcí byla srovnatelná s dosud známými poznatky z jiných studií, včetně původních klinických studií.^{38, 37, 79, 80} Nižší výskyt nežádoucích příhod po booster-očkování v naší studii byl v rozporu s jinými studiemi, ve kterých se autoři cíleně zaměřili na jejich hodnocení.^{81, 82} Pravděpodobným důvodem byla skutečnost, že jsme se soustředili na hodnocení úplného očkování a v době, kdy jsme studii plánovali, nebyla potřeba dalších dávek národními autoritami uvažována. Bezprostřední výpověď účastníků očkovanych booster-dávkou nebyla zajištěna, a proto byla soustředěna do poslední návštěvy ve studii. Účastníci tak vypovídali jen o těch reakcích, které si s několikátýdenním odstupem ještě pamatovali, což mohlo vést k informačnímu zkreslení.

Mechanismus leukopenie vzniklé po očkování mRNA-vakcínami není přesně znám. Existuje však hypotéza, která naznačuje, že snížení celkového počtu bílých krvinek a s ním spojené nežádoucí příhody mohou být způsobeny spíše obecnou imunitní odpovědí než specifickým účinkem vakcíny.⁸³ V rámci studie rané fáze mRNA-vakcín byl u jiného mRNA-kandidáta pozorován pokles počtu lymfocytů.⁸⁴ Je možné, že leukopenie, kterou jsme zaznamenali po aplikaci mRNA-vakcíny v této studii, byla více ovlivněna poklesem lymfocytů než neutrofilů. Přechodný vzestup monocytů zaznamenaný po obou dávkách vakcíny byl popsán i v jiných studiích.^{85, 86} Přímý vliv mRNA-vakcín na erytrocyty nebo na hematokrit jsme nepotvrdili. Na základě toho, že jsou erytrocyty bezjaderné buňky neobsahující žádný genetický materiál,

můžeme konstatovat, že ani nemohou být přímým cílem mRNA-vakcín. Pokles počtu trombocytů v této studii je v souladu s obdobným nálezem jiných publikovaných studií.⁸⁷ Důvodem může být zánětlivá reakce po očkování, která vede ke zvýšení makrofágy zprostředkované klírens a také ke snížení produkce trombocytů vedoucí až k trombocytopenii.⁸⁷ Takové mechanismy byly už dříve předpokládány ve vztahu k idiopatické trombocytopenické purpře po virových infekcích (včetně SARS-CoV-2)⁸⁸ stejně jako po očkování proti jinému viru (např. varicella-zoster).⁸⁹

Vznik autoprotilátek ANA a ANCA po očkování mRNA-vakcínami je považován za velmi vzácný, avšak ne zcela vyloučený, jak naznačují některé studie.^{90, 91, 92, 93, 94} Nižší výskyt autoprotilátek ANA byl dokonce zaznamenán po očkování u imunitně naivních jedinců ve srovnání s primoinfikovanými.⁹⁵ Mechanismy týkající se asociace imunizace a rozvoje autoimunitních poruch nejsou dosud zcela objasněny.⁹⁶

Poprvé možnou asociaci mezi mRNA-očkováním a přechodnou mírou AAA1+ naznačila studie, ve které autoři zaznamenali nově získanou AAA1-pozitivitu jak u zdravých dobrovolníků, tak u pacientů s revmatoidní artritidou.⁹⁷ U subjektů s nadváhou a obezitou však byly pozorovány různé trajektorie hladin AAA1 po očkování ve srovnání s těmi s normální tělesnou hmotností. Několik autoprotilátek, včetně AAA1, se podílí na rozvoji a progresi aterosklerózy a jejích komplikacích. Bylo prokázáno, že AAA1 IgG jsou biomarkerem a možná také mediátorem progresu aterogeneze.^{98, 99} Lze pouze spekulovat, zda autoprotilátky mohou, či nemohou v dlouhodobém horizontu nepřímo ovlivnit výskyt kardiovaskulárních příhod po mRNA-očkování u osob s nadváhou a obezitou.

Dosavadní poznatky ukazují, že očkování jednou dávkou jedinců s předešlou infekcí SARS-CoV-2 může zesílit tuto přirozeně získanou imunitu zvýšením hladin specifických protilátek.⁵⁹ To bylo ostatně ukázáno i v této studii.

Ubývání protilátek anti-S IgG, pozorované v této studii, bylo konzistentní se zjištěním v jiných studiích, které sledovaly cíleně perzistenci postvakcinačních protilátek.^{100, 101}

Zjištěné průlomové infekce v naší studii byly v souladu s nálezy jiných studií, kdy skutečně varianta Omikron je schopna obcházet dosaženou imunitu po úplném i posilujícím očkování. To pak vede ke snížení ochranného efektu očkování.⁵⁴ Stále schází stanovení séroprotektivní meze protilátek, která by pomohla lépe predikovat dosaženou ochranu u jedince. Přestože byly publikovány studie, které se pokusily přiblížit se k této mezi a navrhnout ji, není jasné, jak je tato mez variabilní pro různé varianty infekce SARS-CoV-2.¹⁰²

Klinické a výzkumné implikace

Tato studie ukázala, že po sobě následující dávky mRNA-očkování přechodně zvyšují počty monocytů. Důvodem jsou krátkodobé epigenetické změny v monocytech a s tím související dočasné zesílení odpovědi IFN typu I.¹⁰³ Pokud jde o humorální imunitní odpověď, INF typu I přímo aktivují B-lymfocyty a podporují produkci protilátek během virových infekcí.¹⁰⁴ Podobně jako u účinku pozorovaného během virové infekce jsou zesílené vrozené imunitní reakce vyplývající z očkování mRNA spojeny s produkcí neutralizačních protilátek specifických proti SARS-CoV-2.⁸⁶ Na druhé straně přetrvávající produkce IFN typu I může vést k selhání udržení vyšších titrů protilátek nebo nesprávné produkci autoprotilátek, což vede k autoimunitnímu onemocnění.^{105, 106} S ohledem na důležitost vrozených imunitních odpovědí proti virovým infekcím může objasnění dlouhodobých účinků po sobě následujících dávek mRNA-vakcíny vést k novým strategiím boje proti virovým infekcím.

Apolipoprotein A1 (ApoA1) je hlavní součástí lipoproteinů s vysokou hustotou (HDL), který je považován za ateroprotektivní. Obezita je charakterizována stavem chronického zánětu

nízkého stupně, který je klíčovou součástí aterosklerotického procesu a přispívá k rozvoji metabolických komplikací.¹⁰⁷ Oxidační stres a zánět související s aterosklerózou však vedou k oxidaci a dalším modifikacím ApoA1, což může vést ke změně ateroprotektivních vlastností ApoA1 na proaterogenní.¹⁰⁸ Právě tato modifikace ApoA1 by mohla indukovat tvorbu ApoA1-protilátek (AAA1), které vykazují prozánětlivé vlastnosti.¹⁰⁹ Předpokládali jsme, že vliv očkování na pozitivní hladiny AAA1 IgG se projeví zvýšenou incidencí spíše po druhé než po první dávce vakcíny. Protože tomu tak nebylo, je asociace nepravděpodobná. Proto by v budoucnu mohlo být zajímavé studovat hladiny AAA1 nejen u očkovaných, ale i neočkovaných osob s ohledem na nadváhu či obezitu. Výsledky této studie poukázaly na možnou asociaci mírou AAA1+ a BMI, která může, ale nemusí interagovat s mRNA-očkováním. Podle našeho názoru by bylo zajímavé, aby tento nový vztah byl dále ověřen a studován.

Multivariantní analýza naznačila vztah mezi přítomnými protilátkami ANA a mírou AAA1+. Zda je tato asociace oprávněná, to bude třeba zkoumat na větších souborech, kam bude zařazeno více subjektů majících antinukleární protilátky tak, aby mohla být tato asociace potvrzena, nebo vyvrácena.

Na základě výsledků této studie lze jednoznačně konstatovat, že měření s běžnými ukazateli, jako jsou frekvence časných reakcí, hematologické parametry a vybrané autoprottilátky, potvrdilo přijatelnou bezpečnost mRNA-vakcín. Přesto je toto hodnocení třeba doplnit dlouhodobým sledováním, včetně zahrnutí dalších, třeba i nových, dosud nepoužívaných bezpečnostních biomarkerů.

Síla a limitace studie

Soubor 83 účastníků byl dostatečně velký pro robustní průkaz kumulativní míry AAA1+ 24 % jako nikoliv náhodného jevu. To potvrdila > 80% síla testu oproti nulové hypotéze, že náhodný jev vykazuje v celém souboru výskyt do 10 %. Že je tato míra AAA1+ závislá, a to na BMI účastníků, bylo prokázáno univariantní i multivariantní analýzou.

Podařilo se celou kohortu očkovat výhradně mRNA-vakcínami, což umožnilo hodnotit výsledky na takto homogenní kohortě, protože jsme přijali přiblížení, že obě komerční vakcíny jsou stejného typu, a pokud existuje mezi nimi dílčí odlišnost v mechanismu účinku, nepůjde o rozdíl zásadní. Výsledky nebyly dále vedeny pro jeden a druhý komerční typ, protože převažovalo očkování vakcínou BTN162b2, kterou obdrželo 62 účastníků, tj. 75 %. Výsledky lze tedy v tomto přiblížení přiřadit k očkování právě touto vakcínou.

Limitací studie byla dílčí absence několika vzorků, což neumožnilo vždy párové vyhodnocení. I tak se potvrdilo, že párové analýzy jako analýzy citlivosti nevykazovaly odlišné výsledky od nepárových analýz, které se použily pro hlavní cíle této studie.

Absence standardizovaných testů AAA1 IgG byla nahrazena použitím komerční soupravy vykazující nižší citlivost ve srovnání s „domácími“ (in-house) testy.¹¹⁰ Tato skutečnost mohla přispět k podcenění jak míry AAA1+, tak hladin protilátek. Jsme však přesvědčeni, že tato možná nepřesnost nebyla zásadní a že podobné výsledky lze věrohodně získat i jinými sérologickými soupravami.

Vzhledem k tomu, že tato studie byla provedena na výhradně očkované kohortě, nemohli jsme zhodnotit míru AAA1+ u neočkovaných. Nebylo totiž možné naplánovat neočkovanou kohortu ve specifické době, kterou byla pandemie COVID-19, a většina vojenské populace, ze které byla studijní kohorta rekrutována, vyžadovala očkování. Přesto se nedomníváme, že by kontrolní neočkovaná kohorta měla zásadním způsobem ovlivnit výsledky získané v této studii, jak ukázala incidence AAA1+ po očkování jednou a dvěma dávkami.

Nebylo možné vyhodnotit bezpečnost třetí (tj. posilující) dávky, která v době plánování studie nebyla výrobcí ani autoritami předpokládána. I když jsme si naplánovali poslední návštěvu zhruba jeden rok od zahájení a nechali jsme možnost, že by se strategie očkování změnila, dále jsme změny protokolu podle aktuální situace neprováděli. Proto je hodnocení po třetí dávce očkování jen orientační.

7. ZÁVĚR

Na základě výsledků této studie v souladu s dosavadními poznatky lze považovat očkování mRNA-vakcínami za přijatelně bezpečné. Navzdory vyšší četnosti zaznamenaných nežádoucích příhod nebyla zjištěna žádná závažná reakce ani reakce těžší intenzity. Přechodné a krátkodobé snížení leukocytů, lymfocytů a neutrofilů kompenzované zvýšením monocytů v rozsahu normálních hodnot nemá vliv na celkový zdravotní stav očkováného jedince. Přechodné snížení krevních destiček by sice mohlo představovat riziko trombocytopenie, nicméně dokumentovaný pokles v rozmezí normálních hodnot toto riziko eliminuje. Přítomnost nebo pozitivita vybraných autoprotilátek nebyla v jednoznačné asociaci s očkováním. Vyšší kumulativní míra positivity autoprotilátek proti apolipoproteinu A-1 byla odhalena u jedinců s nadváhou až obezitou. I když jejich pozitivita nebyla setrvalá, zůstává otázka, zda nejde o ukazatel zdravotních komplikací v pozdějším věku. Proto by bylo vhodné dále studovat a zkoumat přítomnost těchto specifických autoprotilátek v dalších studiích.

8. SOUHRN/SUMMARY

Infekce SARS-CoV-2, způsobující onemocnění COVID-19, byla poprvé hlášena v Číně na konci roku 2019. Kvůli jejímu rychlému rozšíření po celém světě, vysoké nakažlivosti a častému výskytu závažných multisystémových příznaků vedoucích k úmrtí byla Světovou zdravotnickou organizací (WHO) v březnu 2020 vyhlášena pandemie. Naléhavá potřeba vyvinout účinnou vakcínu proti tomuto onemocnění vedla k zavedení nejen tradičních, ale také technologicky zcela nových vakcín, jako je mRNA-vakcína. Ve většině evropských zemí byl použit právě tento typ mRNA-vakcín. Jejich urychlený vývoj vyžadoval mimo jiné zvýšenou potřebu sledování také jejich bezpečnosti. Ta byla hlavním cílem naší prospektivní kohortové studie.

Do studie vedené od dubna 2021 do května 2022 bylo zařazeno 83 vojáků z povolání. Během 10 návštěv ve studii byli účastníci dotazováni na nežádoucí příhody, byl jim odebírán vzorek krve pro hematologické vyšetření a získání séra pro stanovení IgG-protilátek specifických proti S-proteinu SARS-CoV-2 a antinukleárních protilátek (ANA), antineutrofilních cytoplazmatických protilátek (ANCA) a protilátek proti apolipoproteinu A-1 (AAA1). Výsledky byly hodnoceny statistickými a analytickými metodami s ohledem na charakter veličiny. Byly prováděny na hladině významnosti 0,05 při oboustranném intervalu spolehlivosti.

Jakákoli nežádoucí příhoda dokumentovaná do sedmi dní se objevila u 71,1 % účastníků po první dávce a u 85,5 % účastníků po druhé dávce očkování. Po posilující dávce byl výskyt nežádoucích příhod registrován jen u 21 % účastníků, protože nebyli dotazováni bezprostředně nebo do sedmi dní po očkování. Nejčastěji hlášenou lokální reakcí byla bolest ramene po aplikaci vakcíny. Mezi celkovými reakcemi dominovaly únava, bolest hlavy a zimnice. Výsledky hematologického vyšetření ukázaly pokles leukocytů, lymfocytů, neutrofilů a trombocytů do jednoho až čtyř dní po aplikaci vakcíny obvykle nezávisle na počtu podaných dávek. Naopak významné zvýšení hladin monocytů bylo zjištěno rovněž bezprostředně po očkování.

Nalezené změny počtu krevních elementů však byly pouze přechodného charakteru, protože do sedmi dní po očkování nevykazovaly žádné rozdíly oproti počátečnímu stavu a dále se jejich počty neměnily po zbývajícím období studijního sledování. Počty erytrocytů, bazofilů a eozinofilů nebyly očkováním významně ovlivněny. Očkování mRNA-vakcínou neukázalo zvýšené riziko positivity autoproti látek ANA a ANCA. Incidence autoproti látek AAA1 u očkováných jedinců nenaznačila spojitost s očkováním mRNA-vakcínami. Ukázalo se však, že míra přechodné AAA1-positivity dosáhla mezi účastníky studie 24,1 %. Ta navíc byla asocio vána s vyšším BMI a u obézních jedinců dosahovala až 47 %.

Postvakcinační protilátky anti-S IgG byly významně vyšší po první dávce u primoinfikovaných a po druhé dávce se koncentrace proti látek 20 300 BAU/mL mezi primoinfikovanými a imunitně naivními významně nelišily. Do 10 měsíců koncentrace proti látek klesla až na úroveň 4 600 BAU/mL. Po posilující dávce však koncentrace anti-S IgG maximálních hodnot nedosáhly. Během studie bylo zaznamenáno 22 průlomových infekcí, a to převážně u jedinců, kteří byli před očkováním imunitně naivní.

Na základě výsledků získaných během této studie lze potvrdit přijatelnou bezpečnost mRNA-vakcín. Vzhledem k relativně krátké době používání mRNA-vakcín je určitě vhodné dlouhodobé sledování nejenom již zmíněných bezpečnostních ukazatelů, ale případně i dalších dosud nepoužívaných parametrů.

The SARS-CoV-2 infection causing COVID-19 disease was first reported in China in late 2019. Due to its rapid spread worldwide, high infectivity and frequent occurrence of severe multisystem symptoms leading to death, a pandemic was declared by the World Health Organization (WHO) in March 2020. The urgent need to develop an effective vaccine against this disease has led to the implementation of not only traditional vaccinees but also technologically novel ones such as the mRNA vaccine. This mRNA vaccine has been used in most European countries. Their accelerated development required an increased need to monitor their safety. Therefore, the main objective of our prospective cohort study was the safety of the mRNA vaccines.

The study, conducted from April 2021 to May 2022, enrolled 83 professional soldiers. During the 10 study visits, participants were interviewed about adverse events, had blood samples drawn for hematologic examination, and serum was obtained for the determination of IgG antibodies specific for SARS-CoV-2 S protein and antinuclear antibodies (ANA), antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA), and apolipoprotein A-1 (AAA1) antibodies. The results were evaluated by statistical and analytical methods with respect to the nature of the variable. They were performed at a significance level of 0.05 with two-sided confidence intervals.

Any adverse event documented within 7 days occurred in 71.1% of participants after the first dose and in 85.5% of participants after the second dose of vaccination. After the booster dose, the occurrence of adverse events was registered in only 21% of participants because they were not interviewed immediately or within 7 days after vaccination. The most commonly reported local reaction was shoulder pain after vaccine administration. Fatigue, headache and chills were predominant among general reactions. Haematological results showed a decrease in leukocytes, lymphocytes, neutrophils and platelets within 1-4 days after vaccine administration, usually irrespective of the number of administered doses. Conversely, a significant increase in monocyte levels was found immediately after vaccination.

However, the changes found in the number of blood elements were only transient in nature, as they showed no differences from baseline up to seven days after vaccination, and their numbers remained unchanged for the remainder of the study follow-up period. The numbers of erythrocytes, basophils and eosinophils were not significantly affected by vaccination. Vaccination with the mRNA vaccine did not show an increased risk of ANA and ANCA autoantibody positivity. The incidence rate of AAA1 autoantibodies in vaccinated individuals did not show an association with mRNA vaccine vaccination. However, the rate of transient AAA1 positivity appeared to be 24.1% among study participants. Moreover, it was associated with higher BMI and was as high as 47% in obese individuals.

Post-vaccination anti-S IgG antibodies were significantly higher after the first dose in primoinfected subjects and after the second dose, antibody concentrations of 20,300 BAU/mL were not significantly different between primoinfected and immune naive subjects. Within 10 months, antibody concentrations decreased to a level of 4,600 BAU/mL. However, anti-S IgG concentrations did not return to their maximum values after the booster dose. During the study, 22 breakthrough infections were recorded, mostly in individuals who were immune naive before vaccination.

Based on the results obtained during this study, the acceptable safety of mRNA vaccines can be confirmed. Given the relatively short duration of use of mRNA vaccines, long-term monitoring not only of the aforementioned safety parameters but also, if necessary, of other parameters not yet used is certainly advisable.

9. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1:	SARS-CoV-2 – varianty, země a data první detekce
Tabulka 2:	Časový plán studie, včetně základních činností v každém studijním bodě
Tabulka 3:	Přehled provedených laboratorních vyšetření ve studii
Tabulka 4:	Přehled účastníků s ohledem na BMI
Tabulka 5:	Přehled souběžného onemocnění podle klasifikace MKN-10
Tabulka 6:	Přehled intervalů mezi návštěvami – plán a realizace
Tabulka 7:	Počet subjektů očkovaných komerční vakcínou BTN162b2 a mRNA-1273 celkem a podle imunitního stavu před očkováním, včetně intervalů mezi podanými dávkami
Tabulka 8:	Počet zpracovaných sér a hematologických odběrů
Tabulka 9:	Četnost lokálních reakcí v závislosti na počtu podaných dávek
Tabulka 10:	Četnost celkových reakcí v závislosti na počtu podaných dávek
Tabulka 11:	Přehled výsledků krevního obrazu; medián absolutních počtů, včetně interkvartilového rozpětí
Tabulka 12:	Asociace míry AAA1+ se zkoumanými faktory; hrubý a adjustovaný poměr šancí, včetně 95% intervalu spolehlivosti
Tabulka 13:	Přehled mediánu hladin AAA1-protilátek před očkováním mRNA-vakcínami a po něm, medián, včetně interkvartilového rozpětí
Tabulka 14:	Přehled GMC IgG anti-S v celém souboru a v podskupinách podle imunitního stavu před očkováním

10. SEZNAM GRAFŮ

- Graf 1: Četnost jakékoli (A), lokální (B) a celkové reakce (C) u imunitně naivních a primoinfikovaných účastníků podle počtu podaných dávek mRNA-vakcín
- Graf 2: Nejčetnější celkové reakce u imunitně naivních a primoinfikovaných účastníků podle počtu podaných dávek mRNA-vakcín; 1. dávka (A), 2. dávka (B), 3. dávka (C)
- Graf 3: Medián leukocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)
- Graf 4: Medián absolutního počtu lymfocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)
- Graf 5: Medián relativního počtu lymfocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)
- Graf 6: Medián absolutního počtu neutrofilů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)
- Graf 7: Medián relativního počtu neutrofilů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru
- Graf 8: Medián absolutního počtu monocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)
- Graf 9: Medián relativního počtu monocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)
- Graf 10: Medián absolutního počtu trombocytů po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru (A), u imunitně naivních (B) a primoinfikovaných (C)
- Graf 11: Medián absolutního počtu erytrocytů (A) a hematokritu (B) po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru
- Graf 12: Medián absolutního počtu eozinofilů (A) a bazofilů (B) po první a druhé dávce vakcíny mRNA v celém souboru
- Graf 13: Přehled proporcí ANA-pozitivních účastníků v celém souboru a podle imunitního stavu před očkováním
- Graf 14: Přehled proporcí AAA1-pozitivních účastníků v celém souboru a podle imunitního stavu před očkováním
- Graf 15: Vliv zkoumaných faktorů na míru AAA1+
- Graf 16: Frekvence nežádoucích příhod po první a druhé dávce u účastníků AAA1+ a AAA1-
- Graf 17: Hladiny AAA1 IgG na celém souboru, včetně sledování do 1 roku (V10)
- Graf 18: Hladiny AAA1 IgG u účastníků s BMI $\leq 26 \text{ kg/m}^2$ (A) a s BMI $> 26 \text{ kg/m}^2$ (B)
- Graf 19: Vývoj GMC anti-S IgG protilátek na celém studijním souboru
- Graf 20: Geometrické průměry koncentrací anti-S IgG protilátek v závislosti na délce doby po očkování, průlomové infekci a posilující dávce u primoinfikovaných a imunitně naivních účastníků studie
- Graf 21: Vývoj GMC anti-S IgG protilátek u imunitně naivních jedinců
- Graf 22: Vývoj GMC anti-S IgG protilátek u primoinfikovaných jedinců

11. LITERATURA

1. Pandemický plán České republiky. Accessed February 28, 2024. https://www.vlada.cz/assets/ppov/brs/dokumenty/Pandemicky_plan_CR.pdf
2. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). Accessed February 28, 2024. <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/dashboards/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>
3. COVID-19: Přehled aktuální situace v ČR. Accessed February 28, 2024. <https://onemocneni-aktualne.mzcr.cz/covid-19>
4. Krátká Z, Fejt V, Kučera R, Fürst T, Zelená H. Protilátky po prodělaném onemocnění COVID-19 poskytují dostatečnou a dlouhodobou ochranu před reinfekcí. *Časopis Lékařů Čes.* 2021(5). Accessed February 28, 2024. <https://www.prolekare.cz/en/journals/journal-of-czech-physicians/2021-5-5/protilatky-po-prodelanem-onemocneni-covid-19-poskytuji-dostatecnou-a-dlouhodobou-ochranu-pred-reinfekci-128503/download?hl=cs>
5. Sarjomaa M, Diep LM, Zhang C, et al. SARS-CoV-2 antibody persistence after five and twelve months: A cohort study from South-Eastern Norway. Alhoot MAM, ed. *PLOS ONE*. 2022;17(8):e0264667. doi:10.1371/journal.pone.0264667
6. Szabó GT, Mahiny AJ, Vlatkovic I. COVID-19 mRNA vaccines: Platforms and current developments. *Mol Ther.* 2022;30(5):1850-1868. doi:10.1016/j.ymthe.2022.02.016
7. Burrell CJ, Howard CR, Murphy FA. Coronaviruses. In: *Fenner and White's Medical Virology*. Elsevier; 2017:437-446. doi:10.1016/B978-0-12-375156-0.00031-X
8. Yuen KS, Ye ZW, Fung SY, Chan CP, Jin DY. SARS-CoV-2 and COVID-19: The most important research questions. *Cell Biosci.* 2020;10(1):40. doi:10.1186/s13578-020-00404-4
9. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Gorbalenya AE, Baker SC, et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;5(4):536-544. doi:10.1038/s41564-020-0695-z
10. Han Q, Lin Q, Jin S, You L. Coronavirus 2019-nCoV: A brief perspective from the front line. *J Infect.* 2020;80(4):373-377. doi:10.1016/j.jinf.2020.02.010
11. Chilamakuri R, Agarwal S. COVID-19: Characteristics and Therapeutics. *Cells.* 2021;10(2):206. doi:10.3390/cells10020206
12. Bergmann CC, Silverman RH. COVID-19: Coronavirus replication, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Cleve Clin J Med.* 2020;87(6):321-327. doi:10.3949/ccjm.87a.20047

13. Xu H, Zhong L, Deng J, et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int J Oral Sci.* 2020;12(1):8. doi:10.1038/s41368-020-0074-x
14. European Centre for Disease Prevention and Control. Accessed February 28, 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/infectious-disease-topics/z-disease-list/covid-19/facts/transmission-covid-19>
15. Rahman S, Montero MTV, Rowe K, Kirton R, Kunik F. Epidemiology, pathogenesis, clinical presentations, diagnosis and treatment of COVID-19: a review of current evidence. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2021;14(5):601-621. doi:10.1080/17512433.2021.1902303
16. Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Indian J Pediatr.* 2020;87(4):281-286. doi:10.1007/s12098-020-03263-6
17. Menni C, Valdes AM, Polidori L, et al. Symptom prevalence, duration, and risk of hospital admission in individuals infected with SARS-CoV-2 during periods of omicron and delta variant dominance: a prospective observational study from the ZOE COVID Study. *The Lancet.* 2022;399(10335):1618-1624. doi:10.1016/S0140-6736(22)00327-0
18. Pagani I, Ghezzi S, Alberti S, Poli G, Vicenzi E. Origin and evolution of SARS-CoV-2. *Eur Phys J Plus.* 2023;138(2):157. doi:10.1140/epjp/s13360-023-03719-6
19. Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med.* 2020;382(16):1564-1567. doi:10.1056/NEJMc2004973
20. Colley CS, Hutchinson JC, Whitten SM, Siassakos D, Sebire NJ, Hillman SL. Routine placental histopathology findings from women testing positive for SARS-CoV -2 during pregnancy: Retrospective cohort comparative study. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2023;130(8):959-967. doi:10.1111/1471-0528.17476
21. Historical working definitions and primary actions for SARS-CoV-2 variants. Accessed February 28, 2024. <https://www.who.int/publications/m/item/historical-working-definitions-and-primary-actions-for-sars-cov-2-variants>
22. Národní zdravotnický informační portál [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR a Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR. Reprodukční číslo. Accessed February 28, 2024. <https://www.nzip.cz/rejstrikovy-pojem/1111>
23. Národní zdravotnický informační portál [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR a Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR. PCR test. Accessed February 28, 2024. <https://www.nzip.cz/rejstrikovy-pojem/1072>
24. Fernandes Q, Inchakalody VP, Merhi M, et al. Emerging COVID-19 variants and their impact on SARS-CoV-2 diagnosis, therapeutics and vaccines. *Ann Med.* 2022;54(1):524-540. doi:10.1080/07853890.2022.2031274

25. Bešević J, Lacey B, Callen H, et al. Persistence of SARS-CoV-2 antibodies over 18 months following infection: UK Biobank COVID-19 Serology Study. *J Epidemiol Community Health*. 2024;78(2):105-108. doi:10.1136/jech-2023-220569
26. Dan JM, Mateus J, Kato Y, et al. *Immunological Memory to SARS-CoV-2 Assessed for up to Eight Months after Infection*. Immunology; 2020. doi:10.1101/2020.11.15.383323
27. Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis*. 2020;1866(10):165878. doi:10.1016/j.bbadis.2020.165878
28. Vakcíny proti COVID-19 v EU Vývoj, vědecké hodnocení, schvalování a sledování. Accessed February 28, 2024. https://www.sukl.cz/file/94558_1_1
29. Shahcheraghi SH, Ayatollahi J, Aljabali AA, et al. An overview of vaccine development for COVID-19. *Ther Deliv*. 2021;12(3):235-244. doi:10.4155/tde-2020-0129
30. Panahi Y, Gorabi AM, Talaei S, et al. An overview on the treatments and prevention against COVID-19. *Viro J*. 2023;20(1):23. doi:10.1186/s12985-023-01973-9
31. Teo SP. Review of COVID-19 mRNA Vaccines: BNT162b2 and mRNA-1273. *J Pharm Pract*. 2022;35(6):947-951. doi:10.1177/08971900211009650
32. Maruggi G, Zhang C, Li J, Ulmer JB, Yu D. mRNA as a Transformative Technology for Vaccine Development to Control Infectious Diseases. *Mol Ther*. 2019;27(4):757-772. doi:10.1016/j.ymthe.2019.01.020
33. Vogel AB, Lambert L, Kinnear E, et al. Self-Amplifying RNA Vaccines Give Equivalent Protection against Influenza to mRNA Vaccines but at Much Lower Doses. *Mol Ther*. 2018;26(2):446-455. doi:10.1016/j.ymthe.2017.11.017
34. Huang Q, Zeng J, Yan J. COVID-19 mRNA vaccines. *J Genet Genomics*. 2021;48(2):107-114. doi:10.1016/j.jggg.2021.02.006
35. Petráš M. Genetické mRNA vakcíny proti CVD-19. Accessed February 28, 2024. https://www.vakciny.net/geneticke-mrna-vakciny-proti-CVD-19?accept_cookie=1
36. Mimořádné opatření MZČR. Accessed February 28, 2024. <https://www.mzcr.cz/wp-content/uploads/2021/04/Mimo%C5%99%C3%A1dn%C3%A9-opat%C5%99en%C3%AD-%E2%80%93-interval-pro-pod%C3%A1n%C3%AD-druh%C3%A9-d%C3%A1vky-vakc%C3%ADny-proti-covid-19-s-%C3%BA%C4%8Dinnost%C3%AD-od-10.-4.-2021.pdf>
37. Meo SA, Bukhari IA, Akram J, Meo AS, Klonoff DC. COVID-19 vaccines: comparison of biological, pharmacological characteristics and adverse effects of Pfizer/BioNTech and Moderna Vaccines. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2021;25(3):1663-1669. doi:10.26355/eurrev_202102_24877
38. Kadali RAK, Janagama R, Peruru S, Malayala SV. Side effects of BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine: A randomized, cross-sectional study with detailed self-reported

- symptoms from healthcare workers. *Int J Infect Dis.* 2021;106:376-381. doi:10.1016/j.ijid.2021.04.047
39. Lai YH, Chen HY, Chiu HH, Kang YN, Wong SB. Peripheral Nervous System Adverse Events after the Administration of mRNA Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis of Large-Scale Studies. *Vaccines.* 2022;10(12):2174. doi:10.3390/vaccines10122174
 40. Yong SJ, Halim A, Halim M, et al. Rare Adverse Events Associated with BNT162b2 mRNA Vaccine (Pfizer-BioNTech): A Review of Large-Scale, Controlled Surveillance Studies. *Vaccines.* 2022;10(7):1067. doi:10.3390/vaccines10071067
 41. Patone M, Handunnetthi L, Saatci D, et al. Neurological complications after first dose of COVID-19 vaccines and SARS-CoV-2 infection. *Nat Med.* 2021;27(12):2144-2153. doi:10.1038/s41591-021-01556-7
 42. Hippisley-Cox J, Patone M, Mei XW, et al. Risk of thrombocytopenia and thromboembolism after covid-19 vaccination and SARS-CoV-2 positive testing: self-controlled case series study. *BMJ.* Published online August 26, 2021:n1931. doi:10.1136/bmj.n1931
 43. Jabagi MJ, Botton J, Bertrand M, et al. Myocardial Infarction, Stroke, and Pulmonary Embolism After BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine in People Aged 75 Years or Older. *JAMA.* 2022;327(1):80. doi:10.1001/jama.2021.21699
 44. Barda N, Dagan N, Ben-Shlomo Y, et al. Safety of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in a Nationwide Setting. *N Engl J Med.* 2021;385(12):1078-1090. doi:10.1056/NEJMoa2110475
 45. Klein NP, Lewis N, Goddard K, et al. Surveillance for Adverse Events After COVID-19 mRNA Vaccination. *JAMA.* 2021;326(14):1390. doi:10.1001/jama.2021.15072
 46. Wan EYF, Chui CSL, Wang Y, et al. Herpes zoster related hospitalization after inactivated (CoronaVac) and mRNA (BNT162b2) SARS-CoV-2 vaccination: A self-controlled case series and nested case-control study. *Lancet Reg Health - West Pac.* 2022;21:100393. doi:10.1016/j.lanwpc.2022.100393
 47. Birabaharan M, Kaelber DC, Karris MY. Risk of herpes zoster reactivation after messenger RNA COVID-19 vaccination: A cohort study. *J Am Acad Dermatol.* 2022;87(3):649-651. doi:10.1016/j.jaad.2021.11.025
 48. Shasha D, Bareket R, Sikron FH, et al. Real-world safety data for the Pfizer BNT162b2 SARS-CoV-2 vaccine: historical cohort study. *Clin Microbiol Infect.* 2022;28(1):130-134. doi:10.1016/j.cmi.2021.09.018
 49. Husby A, Hansen JV, Fosbøl E, et al. SARS-CoV-2 vaccination and myocarditis or myopericarditis: population based cohort study. *BMJ.* Published online December 16, 2021:e068665. doi:10.1136/bmj-2021-068665

50. Whiteley WN, Ip S, Cooper JA, et al. Association of COVID-19 vaccines ChAdOx1 and BNT162b2 with major venous, arterial, or thrombocytopenic events: A population-based cohort study of 46 million adults in England. *Cannegieter SC*, ed. *PLOS Med.* 2022;19(2):e1003926. doi:10.1371/journal.pmed.1003926
51. Xu S, Huang R, Sy LS, et al. COVID-19 Vaccination and Non-COVID-19 Mortality Risk — Seven Integrated Health Care Organizations, United States, December 14, 2020–July 31, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2021;70(43):1520-1524. doi:10.15585/mmwr.mm7043e2
52. Fang E, Liu X, Li M, et al. Advances in COVID-19 mRNA vaccine development. *Signal Transduct Target Ther.* 2022;7(1):94. doi:10.1038/s41392-022-00950-y
53. Wisniewski AV, Campillo Luna J, Redlich CA. Human IgG and IgA responses to COVID-19 mRNA vaccines. *Ansari AA*, ed. *PLOS ONE.* 2021;16(6):e0249499. doi:10.1371/journal.pone.0249499
54. Petráš M, Máčalík R, Janovská D, et al. Risk factors affecting COVID-19 vaccine effectiveness identified from 290 cross-country observational studies until February 2022: a meta-analysis and meta-regression. *BMC Med.* 2022;20(1):461. doi:10.1186/s12916-022-02663-z
55. Petráš M, Lesná IK, Večeřová L, et al. The Effectiveness of Post-Vaccination and Post-Infection Protection in the Hospital Staff of Three Prague Hospitals: A Cohort Study of 8-Month Follow-Up from the Start of the COVID-19 Vaccination Campaign (COVANESS). *Vaccines.* 2021;10(1):9. doi:10.3390/vaccines10010009
56. Ray GT, Lewis N, Klein NP, et al. Intraseason Waning of Influenza Vaccine Effectiveness. *Clin Infect Dis.* 2019;68(10):1623-1630. doi:10.1093/cid/ciy770
57. Lustig Y, Sapir E, Regev-Yochay G, et al. BNT162b2 COVID-19 vaccine and correlates of humoral immune responses and dynamics: a prospective, single-centre, longitudinal cohort study in health-care workers. *Lancet Respir Med.* 2021;9(9):999-1009. doi:10.1016/S2213-2600(21)00220-4
58. Finazzi S, Perego M, Tricella G, et al. SARS-CoV-2 breakthrough infections in vaccinated individuals requiring ventilatory support for severe acute respiratory failure. *Intensive Care Med.* 2023;49(2):248-250. doi:10.1007/s00134-022-06952-2
59. Payne RP, Longet S, Austin JA, et al. Immunogenicity of standard and extended dosing intervals of BNT162b2 mRNA vaccine. *Cell.* 2021;184(23):5699-5714.e11. doi:10.1016/j.cell.2021.10.011
60. Tauzin A, Gong SY, Beaudoin-Bussi res G, et al. Strong humoral immune responses against SARS-CoV-2 Spike after BNT162b2 mRNA vaccination with a 16-week interval between doses. *Cell Host Microbe.* 2022;30(1):97-109.e5. doi:10.1016/j.chom.2021.12.004

61. Aleman A, Upadhyaya B, Tuballes K, et al. Variable cellular responses to SARS-CoV-2 in fully vaccinated patients with multiple myeloma. *Cancer Cell*. 2021;39(11):1442-1444. doi:10.1016/j.ccell.2021.09.015
62. Mittelman M, Magen O, Barda N, et al. Effectiveness of the BNT162b2mRNA COVID-19 vaccine in patients with hematological neoplasms in a nationwide mass vaccination setting. *Blood*. 2022;139(10):1439-1451. doi:10.1182/blood.2021013768
63. WHO SAGE values framework for the allocation and prioritization of COVID-19 vaccination. Accessed February 28, 2024. <https://www.who.int/publications/i/item/who-sage-values-framework-for-the-allocation-and-prioritization-of-covid-19-vaccination>
64. Metodický pokyn pro očkovací kampaň. Plán provedení. Accessed February 28, 2024. <https://www.mzcr.cz/wp-content/uploads/2021/01/Metodický-pokyn-pro-očkovací-kampaň-Plán-provedení.pdf>
65. Prioritizace cílových skupin. Accessed February 28, 2024. <https://www.mzcr.cz/wp-content/uploads/2021/01/Dodatek-1-P%C5%99%C3%ADlohy-1-%E2%80%93-Prioritizace-c%C3%ADlov%C3%BDch-skupin.pdf>
66. Lidé po prodělání onemocnění covid-19 se mohou nově očkovat ihned po skončení izolace. MZČR. Accessed February 28, 2024. <https://www.mzcr.cz/tiskove-centrum-mz/lide-po-prodelani-onemocneni-covid-19-se-mohou-nove-ockovat-ihned-po-skoncenii-izolace/>
67. Chatterjee S, Bhattacharya M, Nag S, Dhama K, Chakraborty C. A Detailed Overview of SARS-CoV-2 Omicron: Its Sub-Variants, Mutations and Pathophysiology, Clinical Characteristics, Immunological Landscape, Immune Escape, and Therapies. *Viruses*. 2023;15(1):167. doi:10.3390/v15010167
68. De Gier B, Huiberts AJ, Hoeve CE, et al. Effects of COVID-19 vaccination and previous infection on Omicron SARS-CoV-2 infection and relation with serology. *Nat Commun*. 2023;14(1):4793. doi:10.1038/s41467-023-40195-z
69. Classification of Omicron (B.1.1.529): SARS-CoV-2 Variant of Concern. Accessed February 28, 2024. [https://www.who.int/news/item/26-11-2021-classification-of-omicron-\(b.1.1.529\)-sars-cov-2-variant-of-concern](https://www.who.int/news/item/26-11-2021-classification-of-omicron-(b.1.1.529)-sars-cov-2-variant-of-concern)
70. Epidemiological update: Omicron variant of concern (VOC) – data as of 16 December 2021. European Centre for Disease Prevention and Control. Accessed February 28, 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-omicron-data-16-december>
71. Andrews N, Tessier E, Stowe J, et al. *Vaccine Effectiveness and Duration of Protection of Comirnaty, Vaxzevria and Spikevax against Mild and Severe COVID-19 in the UK*. *Epidemiology*; 2021. doi:10.1101/2021.09.15.21263583

72. Bar-On YM, Goldberg Y, Mandel M, et al. Protection of BNT162b2 Vaccine Booster against Covid-19 in Israel. *N Engl J Med*. 2021;385(15):1393-1400. doi:10.1056/NEJMoa2114255
73. Patalon T, Gazit S, Pitzer VE, Prunas O, Warren JL, Weinberger DM. Odds of Testing Positive for SARS-CoV-2 Following Receipt of 3 vs 2 Doses of the BNT162b2 mRNA Vaccine. *JAMA Intern Med*. 2022;182(2):179. doi:10.1001/jamainternmed.2021.7382
74. Rosenberg ES, Holtgrave DR, Dorabawila V, et al. New COVID-19 Cases and Hospitalizations Among Adults, by Vaccination Status — New York, May 3–July 25, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021;70(34):1150-1155. doi:10.15585/mmwr.mm7034e1
75. Chenchula S, Karunakaran P, Sharma S, Chavan M. Current evidence on efficacy of COVID-19 booster dose vaccination against the Omicron variant: A systematic review. *J Med Virol*. 2022;94(7):2969-2976. doi:10.1002/jmv.27697
76. Patalon T, Saciuk Y, Peretz A, et al. Waning effectiveness of the third dose of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. *Nat Commun*. 2022;13(1):3203. doi:10.1038/s41467-022-30884-6
77. COVID-19 advice for the public: Getting vaccinated. Accessed February 28, 2024. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines/advice>
78. Burki T. WHO ends the COVID-19 public health emergency. *Lancet Respir Med*. 2023;11(7):588. doi:10.1016/S2213-2600(23)00217-5
79. Pormohammad A, Zarei M, Ghorbani S, et al. Efficacy and Safety of COVID-19 Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Vaccines*. 2021;9(5):467. doi:10.3390/vaccines9050467
80. Ling Y, Zhong J, Luo J. Safety and effectiveness of SARS-CoV-2 vaccines: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol*. 2021;93(12):6486-6495. doi:10.1002/jmv.27203
81. Hassan YAM, Daud Ali M, Al-Eid RR, et al. A retrospective evaluation of side-effects associated with the booster dose of Pfizer-BioNTech/BNT162b2 COVID-19 vaccine among females in Eastern Province, Saudi Arabia. *Vaccine*. 2022;40(49):7087-7096. doi:10.1016/j.vaccine.2022.10.009
82. Di Cosimo S, Lupo-Stanghellini MT, Costantini M, et al. Safety of third dose of COVID-19 vaccination in frail patients: Results from the prospective Italian VAX4FRAIL study. *Front Oncol*. 2022;12:1002168. doi:10.3389/fonc.2022.1002168
83. Sing C, Tang CTL, Chui CSL, et al. COVID -19 vaccines and risks of hematological abnormalities: Nested case–control and self-controlled case series study. *Am J Hematol*. 2022;97(4):470-480. doi:10.1002/ajh.26478
84. Mulligan MJ, Lyke KE, Kitchin N, et al. Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature*. 2020;586(7830):589-593. doi:10.1038/s41586-020-2639-4

85. Flego D, Cesaroni S, Romiti GF, et al. Platelet and immune signature associated with a rapid response to the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. *J Thromb Haemost.* 2022;20(4):961-974. doi:10.1111/jth.15648
86. Arunachalam PS, Scott MKD, Hagan T, et al. Systems vaccinology of the BNT162b2 mRNA vaccine in humans. *Nature.* 2021;596(7872):410-416. doi:10.1038/s41586-021-03791-x
87. Lee E, Cines DB, Gernsheimer T, et al. Thrombocytopenia following Pfizer and Moderna SARS-CoV -2 vaccination. *Am J Hematol.* 2021;96(5):534-537. doi:10.1002/ajh.26132
88. Dotan A, Shoenfeld Y. Perspectives on vaccine induced thrombotic thrombocytopenia. *J Autoimmun.* 2021;121:102663. doi:10.1016/j.jaut.2021.102663
89. Burn E, Li X, Delmestri A, et al. Thrombosis and thrombocytopenia after vaccination against and infection with SARS-CoV-2 in the United Kingdom. *Nat Commun.* 2022;13(1):7167. doi:10.1038/s41467-022-34668-w
90. Ghielmetti M, Schaufelberger HD, Mieli-Vergani G, et al. Acute autoimmune-like hepatitis with atypical anti-mitochondrial antibody after mRNA COVID-19 vaccination: A novel clinical entity? *J Autoimmun.* 2021;123:102706. doi:10.1016/j.jaut.2021.102706
91. Ishay Y, Kenig A, Tsemach-Toren T, et al. Autoimmune phenomena following SARS-CoV-2 vaccination. *Int Immunopharmacol.* 2021;99:107970. doi:10.1016/j.intimp.2021.107970
92. Gen S, Iwai T, Ohnari S, Nobe K, Ikeda N. ANCA-Associated Vasculitis after Moderna COVID-19 Vaccination. Fujigaki Y, ed. *Case Rep Nephrol.* 2023;2023:1-5. doi:10.1155/2023/4906876
93. Thammathiwat T, Banjongjit A, Iampenkhoe K, Townamchai N, Kanjanabuch T. ANCA Associated Glomerulonephritis Following SARS-CoV-2 Vaccination: A Case Series and Systematic Review. *Vaccines.* 2023;11(5):983. doi:10.3390/vaccines11050983
94. Sekar A, Campbell R, Tabbara J, Rastogi P. ANCA glomerulonephritis after the Moderna COVID-19 vaccination. *Kidney Int.* 2021;100(2):473-474. doi:10.1016/j.kint.2021.05.017
95. Blank RB, Haberman RH, Qian K, et al. Low incidence and transient elevation of autoantibodies post mRNA COVID-19 vaccination in inflammatory arthritis. *Rheumatology.* 2022;62(1):467-472. doi:10.1093/rheumatology/keac322
96. Świerkot J, Madej M, Szmyrka M, et al. The Risk of Autoimmunity Development following mRNA COVID-19 Vaccination. *Viruses.* 2022;14(12):2655. doi:10.3390/v14122655

97. Vuilleumier N, Pagano S, Ludewig B, et al. Anti-SARS-CoV-2 mRNA vaccines as inducers of humoral response against apolipoprotein A-1? *Eur J Clin Invest.* 2022;52(2):e13713. doi:10.1111/eci.13713
98. Vuilleumier N, Montecucco F, Hartley O. Autoantibodies to apolipoprotein A-1 as a biomarker of cardiovascular autoimmunity. *World J Cardiol.* 2014;6(5):314. doi:10.4330/wjc.v6.i5.314
99. Antiochos P, Marques-Vidal P, Virzi J, et al. Association between anti-apolipoprotein A-1 antibodies and cardiovascular disease in the general population: Results from the CoLaus study. *Thromb Haemost.* 2016;116(10):764-771. doi:10.1160/TH16-03-0248
100. Voutouri C, Hardin CC, Naranbhai V, et al. Mechanistic model for booster doses effectiveness in healthy, cancer, and immunosuppressed patients infected with SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci.* 2023;120(3):e2211132120. doi:10.1073/pnas.2211132120
101. Dodge MC, Cole M, Duffy ER, Werler MM, Kataria Y. Fifteen-Month Follow-Up of Anti-Spike Receptor-Binding Domain SARS-CoV-2 Antibodies among Healthcare Workers in Boston, MA. *J Appl Lab Med.* 2022;7(6):1430-1437. doi:10.1093/jalm/jfac056
102. Perry J, Osman S, Wright J, et al. Does a humoral correlate of protection exist for SARS-CoV-2? A systematic review. Huber VC, ed. *PLOS ONE.* 2022;17(4):e0266852. doi:10.1371/journal.pone.0266852
103. Yamaguchi Y, Kato Y, Eda Hiro R, et al. Consecutive BNT162b2 mRNA vaccination induces short-term epigenetic memory in innate immune cells. *JCI Insight.* 2022;7(22):e163347. doi:10.1172/jci.insight.163347
104. Le Bon A, Thompson C, Kamphuis E, et al. Cutting Edge: Enhancement of Antibody Responses Through Direct Stimulation of B and T Cells by Type I IFN. *J Immunol.* 2006;176(4):2074-2078. doi:10.4049/jimmunol.176.4.2074
105. Price GE, Gaszewska-Mastarlarz A, Moskophidis D. The Role of Alpha/Beta and Gamma Interferons in Development of Immunity to Influenza A Virus in Mice. *J Virol.* 2000;74(9):3996-4003. doi:10.1128/JVI.74.9.3996-4003.2000
106. Kiefer K, Oropallo MA, Cancro MP, Marshak-Rothstein A. Role of type I interferons in the activation of autoreactive B cells. *Immunol Cell Biol.* 2012;90(5):498-504. doi:10.1038/icb.2012.10
107. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest.* 2005;115(5):1111-1119. doi:10.1172/JCI25102
108. Navab M, Reddy ST, Van Lenten BJ, Fogelman AM. HDL and cardiovascular disease: atherogenic and atheroprotective mechanisms. *Nat Rev Cardiol.* 2011;8(4):222-232. doi:10.1038/nrcardio.2010.222
109. Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. ApoA1 and ApoA1-specific self-antibodies in cardiovascular disease. *Lab Invest.* 2016;96(7):708-718. doi:10.1038/labinvest.2016.56

110. Frias MA, Virzi J, Batuca J, et al. ELISA methods comparison for the detection of auto-antibodies against apolipoprotein A1. *J Immunol Methods*. 2019;469:33-41. doi:10.1016/j.jim.2019.03.011

12. PŘÍLOHY

Příloha 1: Záznamový list subjektu

Příloha 2: Informovaný souhlas s účastí ve studii

Příloha 3: Publikace

Máčalík R, Petráš M, Čelko AM, Chmátal P, Tlapák J, Dlouhý P, Malinová J, Lesná IK. BMI-Associated Anti-Apolipoprotein A-1 Positivity in Healthy Adults after mRNA-Vaccination against COVID-19. *Vaccines (Basel)*. 2023 Mar 16;11(3):670. doi: 10.3390/vaccines11030670. PMID: 36992254; PMCID: PMC10053701.
IF: 7.800/2022

ZÁZNAMOVÝ LIST SUBJEKTU

Jméno a příjmení.....

Datum narození..... Subjekt č. Datum návštěvy..... Vizita č.....

Zaměstnání, funkce.....

Fyzikální vyšetření (vypsat abnormality, pokud nejsou uveďte se bez abnormalit)

Vitální funkce V^1 V^{X+1} V^{X+6}

Tělesná výška	cm	Krevní tlak (sys/dias)	mmHg
Hmotnost	kg	Tepová frekvence	/min
Tělesná teplota	°C	Dechová frekvence	/min

Očkování: ☐ Ano ☐ Ne **Vakcína:** ☐ Comirnaty ☐ AstraZeneca
Odběr žilní krve: ☐ Ano ☐ Ne ☐ Moderna ☐ Janssen
St.p. COVID-19: ☐ Ano ☐ Ne **Pozitivní výsledek PCR testu dne**

Souběžná onemocnění (MKN)

..... Léčivo (název) DDD jednotka
..... Léčivo (název) DDD jednotka
..... Léčivo (název) DDD jednotka
..... Léčivo (název) DDD jednotka

Nežádoucí příhody

Popis
Datum: začátku ukončení Intenzita
Opatření Výsledek Vztah

Popis
Datum: začátku ukončení Intenzita
Opatření Výsledek Vztah

Popis
Datum: začátku ukončení Intenzita
Opatření Výsledek Vztah

Intenzita: mírná, střední, vážná; Provedená opatření: žádná, léčba (specifikace); Výsledek: uzdravení, uzdravení s následky, neznámý; Vztah k hodnocení očkování: nepravděpodobný, pravděpodobný

Datum

Podpis lékaře, jmenovka

INFORMOVANÝ SOUHLAS S ÚČASTÍ VE STUDII

Jméno a příjmení.....

Datum narození.....

Telefon.....

Vážená paní, vážený pane,
před zapojením do studie si, prosím, pozorně přečtěte následující informace. Budete-li mít jakékoliv otázky, neváhejte se obrátit na lékaře uvedeného níže. Pokud se rozhodnete do studie zapojit, budete požádáni o podepsání tohoto formuláře.

Účel studie

Od konce roku 2020 probíhá v České republice očkování proti onemocnění COVID-19, k čemuž se momentálně používají 3 různé očkovací látky. Účelem této studie je laboratorně ověřit protilátkovou odpověď na očkování proti onemocnění COVID-19 způsobenému koronavirem SARS-CoV-2. Očkování bylo zhodnoceno jako bezpečné. Jeho bezpečnost bude v této studii rovněž hodnocena na základě krevních parametrů, jako jsou bílé a červené krvinky, krevní destičky a další ukazatele autoimunitních onemocnění.

Popis studie

Ve stanovených časových intervalech podle plánu studie Vám bude odebrán vzorek žilní krve v množství 15 ml krve. V den aplikace první a druhé očkovací dávky se podrobíte lékařskému vyšetření zahrnující změření tělesné výšky, hmotnosti, tělesné teploty, krevního tlaku a srdeční a dechové frekvence. Budete dotázáni na Váš zdravotní stav a na užívanou medikaci včetně volně prodejných léčiv a doplňků stravy během posledních 14 dní.

Vaše krev bude dále zpracována v laboratoři a získané sérum se zamrazí. Jakmile bude nashromážděn potřebný počet sér, provede se stanovení protilátkové odpovědi po očkování a autoimunitních ukazatelů. Pokud Vás budou výsledky po skončení studie zajímat, můžete se obrátit na MUDr. Romana Máčalíka.

Rizika spojená se studií

Tato studie nezahrnuje žádné neobvyklé riziko. Jediným zdravotnickým úkonem, byť opakovaným, je odběr žilní

krve v maximálním množství 15 ml, který se provede na horní končetině. V místě vpichu při odběru můžete pocítit mírnou bolest. Vpich do žíly může vyvolat vznik místní podlitiny (modřiny) trvající několik dní nebo vzácně zánět žíly a s tím spojenou infekci. U některých jedinců může odběr krve vést k točení hlavy a ke mdlobě, což má obvykle příznivý průběh a krátké trvání. Vzorek bude označen Vašimi iniciály a pořadovým číslem tak, aby nebyla Vaše totožnost zjištěna.

Další informace

Všechny údaje získané během studie jsou důvěrné. V případě neobvyklých výsledků fyzikálního i laboratorního vyšetření zjištěných během studie budete neprodleně informován/a.

Všechny údaje sesbírané ve studii budou použity pro její účely bez použití Vaší totožnosti.

Odebrané vzorky krve nebudou využity k žádnému genetickému vyšetřování. Veškeré vzorky krve získané během této studie budou po ukončení studie řádně zlikvidovány.

Veškeré záznamy budou uchovávány a bude s nimi nakládáno v souladu s právními předpisy.

Vaše účast ve studii je dobrovolná a není finančně kompenzovaná. Vaši účast ve studii můžete kdykoli odmítnout nebo z ní můžete kdykoli odejít bez udání důvodu.

Svým podpisem potvrzujete, že jste si přečetl/a text tohoto informovaného souhlasu a porozuměl/a jste uspořádání, účelu a postupům studie. Lékař Vám uspokojivě odpověděl na všechny Vaše otázky, na které jste se zeptal/a a vysvětlil všechny pojmy, kterým jste případně nerozuměl/a. Na Vaši účast ve studii nebyl vyvíjen žádný nátlak.

Pokud budete potřebovat další informace o této studii, můžete se kdykoli obrátit na MUDr. Romana Máčalíka (Ústav leteckého zdravotnictví Praha, tel. +420 973 212 211, macalik@ulz.cz).

Jméno a příjmení hůlkově včetně podpisu účastníka studie / datum

Jméno a příjmení hůlkově včetně podpisu lékaře / datum