

Univerzita Karlova v Praze

3. lékařská fakulta

Postgraduální doktorské studium biomedicíny

Obor: Preventivní medicína

**Závažnost chřipky v kontextu akutních
respiračních infekcí a klimatu**

Dizertační práce

MUDr. Jan Kynčl

Pracoviště: Státní zdravotní ústav v Praze

Centrum epidemiologie a mikrobiologie

Školitel: Doc. MUDr. Bohumír Kříž, CSc.

Praha 2005

OBSAH:

1. ÚVOD	4
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	6
2.1. Akutní respirační onemocnění	6
2.2. Chřipka	11
2.2.1. Z historie	11
2.2.2. Taxonomie a biologické vlastnosti viru	14
2.2.3. Pandemie ve 20. století	16
2.2.4. Epidemiologie a průběh onemocnění	19
2.2.5. Možnosti prevence chřipky	22
2.3. Klima a počasí	29
3. CÍL PRÁCE	32
4. MATERIÁL A METODIKA	33
4.1. Data o výskytu akutních respiračních infekcí	33
4.2. Data o počtech zemřelých	34
4.3. Klimatické údaje	35
4.4. Statistické zpracování	35
5. VÝSLEDKY	38
5.1. Výskyt a vztah nemocnosti ARI v jednotlivých věkových skupinách	38
5.2. Vztah úmrtnosti a nemocnosti ARI	40
5.3. Stanovení excesu úmrtí v době chřipkové epidemie	43
5.4. Analýza vlivu klimatických faktorů na výskyt ARI	47
6. DISKUSE	54
6.1. Stanovení excesu úmrtí v důsledku chřipky	54
6.2. Surveillance ARI v České republice	57
6.3. Vliv teploty a znečištění ovzduší na exces úmrtí	59
6.4. Vztah úmrtnosti a nemocnosti ARI	62
6.5. Vliv klimatických faktorů na výskyt ARI	63
6.6. Očkování proti chřipce	66
7. ZÁVĚR	68
8. SEZNAM TABULEK, OBRÁZKŮ A GRAFŮ POUŽITÝCH V TEXTU	69
9. SEZNAM ZKRATEK	71
10. PŘEHLED PRACÍ AUTORA V SOUVISLOSTI S DIZERTACÍ	72
11. POUŽITÁ LITERATURA	75
12. IMPAKTOVANÉ PRÁCE AUTORA V SOUVISLOSTI S DIZERTACÍ	85

Poděkování

Děkuji svému školiteli, Doc. MUDr. Bohumíru Křížovi, CSc., za pomoc a odborné vedení mého postgraduálního studia a připomínkování dizertační práce.

Rád bych dále poděkoval RNDr. Bohumíru Procházkovi, CSc., vedoucímu Oddělení biostatistiky a informatiky SZÚ, za odbornou pomoc při statistickém zpracování dat a za dílčí připomínkování dizertace.

Můj dík patří také Doc. MUDr. Jaroslavu Stránskému, CSc. z 1. interní kliniky 3. LF UK a FNKV za cenné rady a diskuse k jednotlivým tématům během psaní rukopisu.

1. ÚVOD

Infekce respiračního traktu jsou nejčastějším lidským onemocněním, postihujícím všechny věkové skupiny obyvatelstva (1-4). Jsou hlavní příčinou pracovní neschopnosti a školní absence. Přestože se v uplynulých desetiletích podařilo dosáhnout velkého pokroku v prevenci i léčbě infekčních nemocí, akutní respirační infekty představují stále velmi závažný zdravotní i ekonomický problém (5-7). Ve výskytu těchto onemocnění není velký rozdíl mezi vyspělými a rozvojovými zeměmi; v rozvojových zemích je však mnohonásobně více úmrtí (8). Komplikace respiračních infekcí, zejména pneumonie, mohou dále ohrozit život především u osob oslabených jinou chronickou nemocí či vysokým věkem (9).

Dnešní podoba monitorování akutních respiračních infekcí (ARI) vznikla v roce 1968 a je zahrnuta do komplexního programu kontroly a prevence těchto onemocnění (10;11). Program navazoval na sledování nemocnosti chřipkou v Československu, které začalo již v roce 1951 jako aktivita Referenční laboratoře - Československé chřipkové centrály; byla jednou z prvních laboratoří v síti Světové zdravotnické organizace.

Systém hlášení ARI slouží k získání týdenního přehledu o počtech nemocných ARI v jednotlivých okresech a krajích ČR pro potřeby hygienické služby, Ministerstva zdravotnictví, European Influenza Surveillance Scheme (EU), FluNet (WHO) a také pro širokou veřejnost.

Pokud jde o závažnost akutního respiračního onemocnění, není pochyb o tom, že se chřipka výrazně odlišuje od ostatních akutních respiračních infekcí (3;12-14). Při onemocnění chřipkou totiž často vznikají komplikace, které dále zhoršují vlastní průběh nemoci. Věkově specifická nemocnost je ovlivněna výskytem protilátek po prodělaném onemocnění v minulosti. Nejvyšší výskyt nemocných je obvykle zjišťován u školáků a mladých dospělých, maximum počtu úmrtí je mezi seniory (15-17). Vzhledem k podobnosti projevů respiračních infekcí bývají chřipková a nechřipková onemocnění často zaměňována a chřipka je podceňována (1).

Chřipka se dále odlišuje od ostatních ARI tím, že proti ní existuje preventivní očkování. Protichřipková vakcinace je dostupná již desítky let a její výhody jsou dobře

známy (18;19). Cost-effectiveness očkování byla opakováně prokázána (20;21). O to více je překvapující, že očkování není v plné míře využíváno a doporučováno.

V neposlední řadě spočívá specifičnost chřipky ve schopnosti vyvolávat každoroční epidemie a za určitých okolností vést k pandemii, a tím zásadně ovlivnit celosvětové dění. Tyto vlastnosti byly podkladem vzniku tzv. „Global Agenda on Influenza Surveillance and Control“ Světové zdravotnické organizace (WHO). Uvedený program definuje 17 prioritních činností s cílem snížení nemocnosti a úmrtnosti v každoročních chřipkových epidemiích a k zabezpečení připravenosti na příští pandemii (22;23). Řada aktivit je také obsahem pandemických plánů, které jsou vytvářeny na všech úrovních - celosvětové, kontinentální, národní a regionální.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

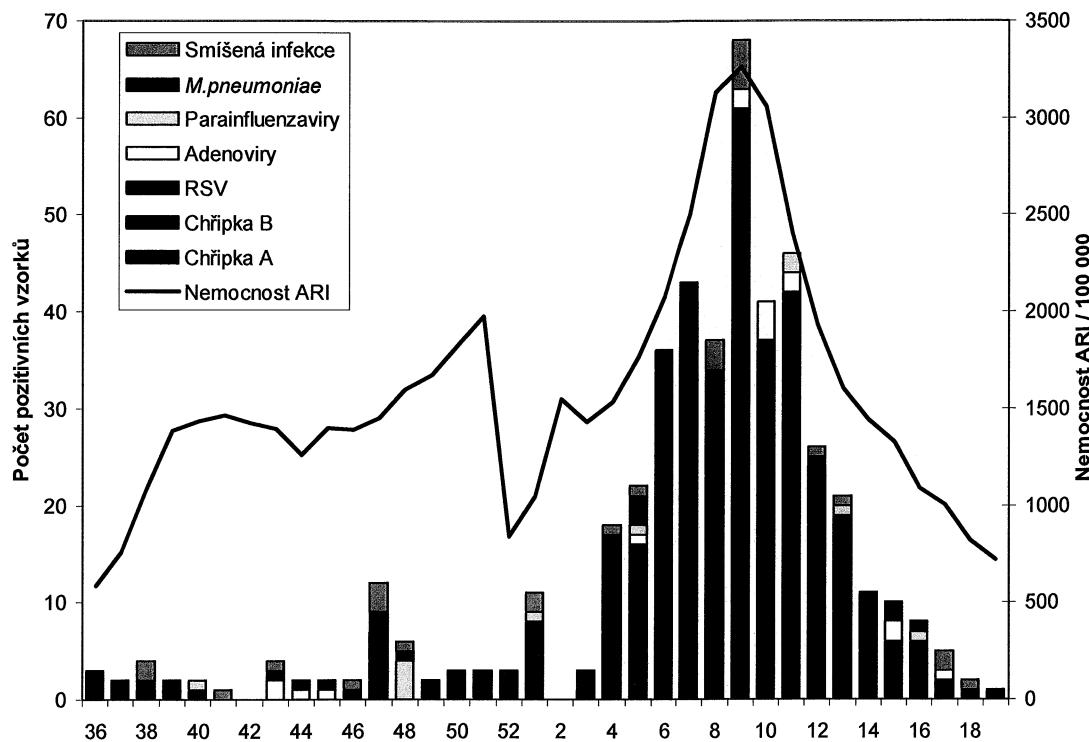
2.1. Akutní respirační onemocnění

Počet virů způsobujících onemocnění akutní respirační infekcí přesahuje číslo 200. Jako původci epidemického výskytu se uplatňují zejména viry chřipky, parainfluenzy, respirační syncytialní virus (RSV), adenoviry a nevirové agens *Mycoplasma pneumoniae* (24;25). Tato agens cirkulují v populaci v průběhu celého roku a na vzniku onemocnění se uplatňují v různé míře. Uvedenou skutečnost přehledně demonstrují grafy 1 až 4, které zobrazují výskyt nejdůležitějších sledovaných etiologických agens ve vyšetřeném biologickém materiálu v ČR, a to v sezóně s typickou chřipkovou epidemií (2002/2003) i v sezóně bez chřipkové epidemie (2001/2002).

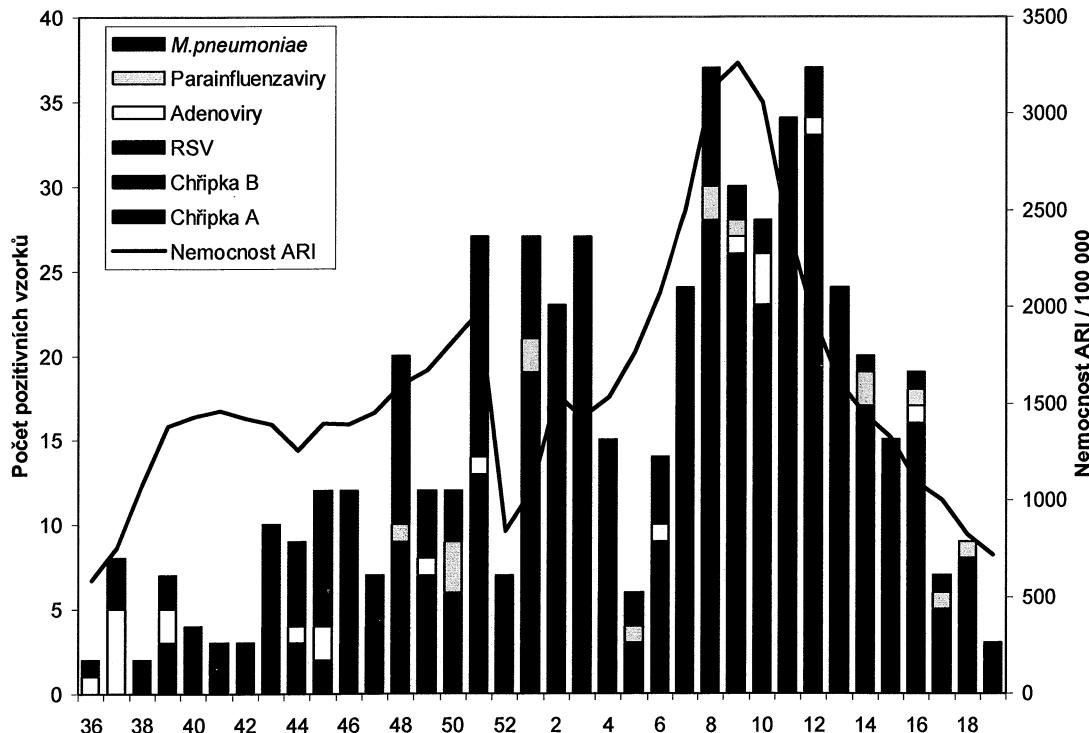
Nejvyšší počet respiračních onemocnění je způsoben rhinoviry a viry chřipky (4;26). Infekci kromě již výše uvedených původců také vyvolávají např. koronaviry, herpetické viry či enteroviry (27). Přestože většina akutních respiračních onemocnění je virové etiologie, mohou být samozřejmě způsobena i bakteriálními agens. Bakteriální původce však spíše vyvolává komplikace infekce, tj. navazuje na onemocnění primárně vyvolané viry. Nejvyšší výskyt akutních respiračních onemocnění je během druhého roku života, poté (s výjimkou období 20 – 30 let věku) počet nemocných klesá (8). Vyšší výskyt nemocných je někdy také v pokročilém věku. V prvním roce života jsou děti méně nemocné vzhledem k přítomnosti transplacentárně získaných protilátek a k přenosu protilátek od matky kojením.

Výskyt akutních respiračních onemocnění je ovlivňován mnoha různými vlivy a faktory. Vlastnosti mikroorganismu (patogenita, invazivita, virulence) a vlastnosti makroorganizmu (na které má vliv např. stav imunity, chronická onemocnění, kouření, socioekonomický status, malnutrice) ovlivňují, zda konkrétní člověk onemocní po expozici určitému agens. Při celkovém hodnocení četnosti výskytu onemocnění se uplatňuje také vliv znečištění ovzduší a klimatologické faktory. Ve venkovním ovzduší se uplatňuje negativní vliv zejména oxidu siřičitého, oxidů dusíku, ozónu a pevných respirabilních částic.

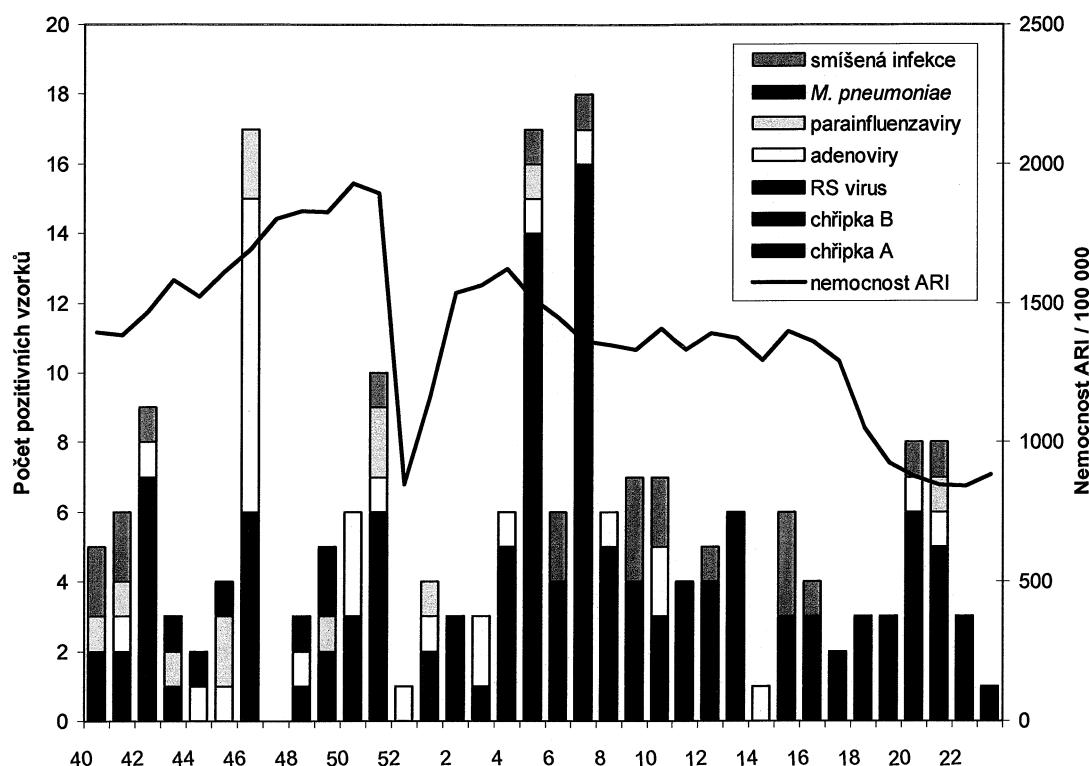
Graf 1. Počet pozitivních detekcí jednotlivých etiologických agens ve vyšetřeném biologickém materiálu v ČR v kalendářních týdnech sezóny 2002/2003



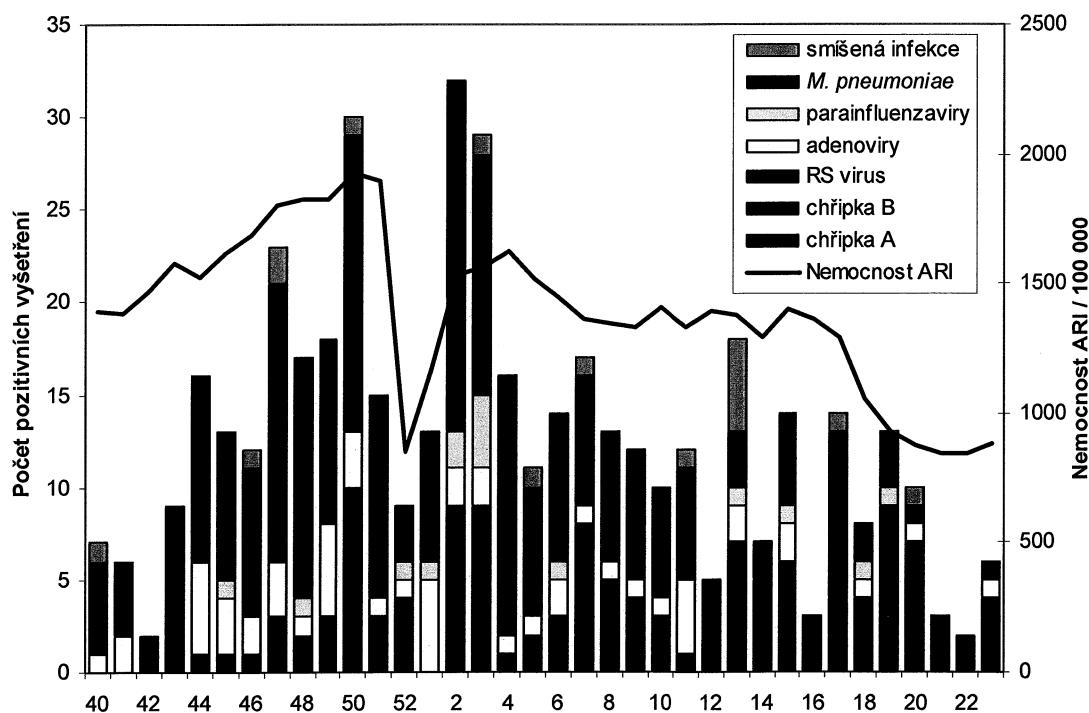
Graf 2. Počet pozitivních sérologických průkazů jednotlivých etiologických agens ve vyšetřeném biologickém materiálu v ČR v kalendářních týdnech sezóny 2002/2003



Graf 3. Počet pozitivních detekcí jednotlivých etiologických agens ve vyšetřeném biologickém materiálu v ČR v kalendářních týdnech sezóny 2001/2002



Graf 4. Počet pozitivních sérologických průkazů jednotlivých etiologických agens ve vyšetřeném biologickém materiálu v ČR v kalendářních týdnech sezóny 2001/2002



Problematika vlivu znečištění ovzduší na výskyt respiračních onemocnění je tématem mnoha odborných publikací již po desetiletí (28-30). Jsou v nich hodnoceny akutní a chronické účinky znečištění ovzduší na lidské zdraví. Pokud se vyskytují extrémně vysoké koncentrace znečišťujících látek v ovzduší, jsou jednoznačně spojeny s výrazně zvýšenou nemocností a úmrtností (31). Vliv časově ohraničeného extrémního znečištění ovzduší na zvýšení nemocnosti a úmrtnosti v důsledku onemocnění oběhového a respiračního systému je totiž velmi dobře zdokumentován. Nejznámějšími příklady takové situace jsou Meuse Valley v Belgii (1930), Donora v americké Pennsylvánii (1948), New York (1953 a 1962) či Londýn (1948, 1952 a 1956). Tyto případy mají podobnou charakteristiku: inverzní situace, znečištění ovzduší z průmyslových podniků a lokálních toopenišť na pevná paliva. Podobné extrémní případy však najdeme i v nedaleké minulosti. Jsou známé případy poškození zdraví po vdechování toxických látek ze zapálených ropných vrtů při válce v Perském zálivu. Zvýšený počet nemocných byl také evidován po expozici prachu, kouři a dalším látkám po pádu budov Světového obchodního centra v New Yorku v září 2001. Nevojenským příkladem je situace po výbuchu sopky.

Naproti tomu ještě v 90. letech 20. století stále probíhala diskuse o vlivu nízkých koncentrací znečišťujících látek v ovzduší na zdravotní stav populace. V 80. a 90. letech 20. století bylo sice provedeno mnoho dalších studií, které prokázaly, že i u mírně zvýšených koncentrací škodlivin v ovzduší dochází ke zvýšení počtu nemocných a zemřelých (30;32-34). Nicméně vliv znečištění ovzduší byl někdy prokázán pouze na onemocnění horních cest dýchacích, jindy zase jen na onemocnění dolních cest dýchacích. Přestože se nepochybňuje uplatňuje určitý vliv znečištění ovzduší na nemocnost a úmrtnost, není snadné jednoznačně stanovit jeho dosah, protože atributivní riziko je relativně nízké (35;36). Ve většině studií nebylo prováděno virologické vyšetření nemocných, a proto není zcela jasné, zda byla zvýšená nemocnost způsobena reaktivitou dýchacích cest po podráždění noxou nebo primární infekcí dýchacích cest.

Velmi podrobně se výzkumníci zabývají znečištěním vnitřního prostředí. Vliv, který lze přičíst expozici oxidům dusíku při vaření na plynovém sporáku, je velmi nízký nebo vůbec žádný. Naproti tomu je zřetelný vzestup počtu akutních respiračních onemocnění v domácnostech kuřáků. Expozice cigaretovému kouři má největší vliv na malé děti. Zvýšená nemocnost je samozřejmě také u aktivních kuřáků. Kouření jako rizikový

faktor má významný negativní vliv i na výskyt dalších onemocnění. Příkladem může být např. riziko invazivního meningokokového onemocnění u dětí, které je významně ovlivněno kouřením rodičů. Ve studii případů a kontrol bylo zjištěno riziko onemocnění 3,5krát vyšší v případě, že kouří matka; 3,2krát větší, je-li kuřák otec; a dokonce 8,2krát větší, pokud kouří oba rodiče (37). Uvedená studie dále podrobně sledovala intenzitu kouření rodičů – riziko meningokokového onemocnění u dětí bylo v průměru 2,7krát vyšší za každých 20 doma vykouřených cigaret denně (37).

Četnost výskytu nemoci či úmrtí souvisí také s velikostí rodiny a bytu. Zejména v případě mnohočlenných rodin v malých bytech se používá charakteristického termínu „přelidnění“. Akutní respirační onemocnění se v těchto podmínkách snáze šíří, neboť pro přenos je charakteristická kapénková infekce. Podobně je vyšší počet onemocnění u dětí navštěvujících předškolní zařízení. Zejména v rozvojových zemích se však jako matoucí faktor k přelidnění uplatňuje malnutrice a odlišení samostatného vlivu každého z těchto rizikových faktorů je obtížné.

Další významné faktory, které ovlivňují výskyt akutních respiračních onemocnění, jsou meteorologické vlivy. Zvýšený výskyt či epidemie nejlépe korelují s nízkou teplotou, vlhkostí, srážkami nebo také se všemi z faktorů, které vedou k prodloužení času strávenému v uzavřených prostorech. Není potvrzeno, zda je vliv meteorologických faktorů na vyšší lidskou vnímavost samostatný nebo zda musí být společně s tzv. přelidněním, popisovaným již dříve. Byl studován vliv nízké teploty v domácnostech nebo prochlazení na náchylnost k onemocnění či úmrtí (38;39). Pokud jde o meteorologické faktory, tak s počtem hospitalizovaných pro respirační onemocnění nejlépe koreluje nízká teplota (40;41). Na severní polokouli bývá nejvyšší znečištění ovzduší právě uprostřed zimy, pravděpodobně při kondenzaci pevných částic, výskytu mraků a srážek, které brání rozptýlení částic a plynů. Nelze vyloučit, že v ovzduší zůstávají jádra kapének obsahující patogeny. Dalším z možných meteorologických faktorů přispívajících k vyšší nemocnosti je vlhkost. V prostředí s vyšší vlhkostí lépe přežívají např. rhinoviry; nákaza témito viry je tudíž snadnější a častější na místech s vyšší vlhkostí, resp. v ročním období s vyšší vlhkostí. Vzhledem k tomu, že vysoká vlhkost však bývá často asociována s obdobím dešťů, je vhodné do studií analyzujících korelace vlhkosti a nemocnosti také zahrnout vliv přelidnění, neboť během deště lze očekávat vyšší koncentraci obyvatel v budovách.

V této souvislosti je vhodné ještě dodat, že mezi diskutované hypotézy patří pravděpodobná interference osídlení dýchacích cest jednotlivými patogeny. Zatímco např. rhinoviry bývají u lidí izolovány v průběhu celého roku (24), u většiny ostatních virů bývá pozorován spíše typický sezónní výskyt, což potvrzuje i již dříve uvedené grafy 1-4, které zobrazují výskyt nejdůležitějších sledovaných etiologických agens ve vyšetřeném biologickém materiálu v ČR. V tzv. „listopadovém“ počasí bývají dominantním původcem respiračních infekcí obvykle rhinoviry a nechřipkové respirační viry; chřipkové epidemie mnohdy začínají za slunečného mrazivého počasí, kdy počet nechřipkových virových onemocnění respiračního traktu prudce klesá. Dalším podkladem pro tuto hypotézu je i zkušenosť, že krátce před začátkem chřipkové epidemie dochází ke snížení výskytu případů infekce RSV.

2.2. Chřipka

Chřipka (influenza) představuje pro své klinické i epidemiologické vlastnosti relativně specifický syndrom. Chřipka je vysoce nakažlivé virové onemocnění dýchacího ústrojí. Již od starověku postihuje lidstvo v epidemiích, někdy dokonce v pandemii (tj. epidemii, která se rozšíří po celém světě). Epidemie, resp. pandemie chřipky je charakterizovaná náhlým nástupem viru částečně, resp. zcela odlišných vlastností, než vykazovaly předchozí varianty viru. Chřipka může ochromit zejména průmyslové oblasti s velkou hustotou obyvatelstva a má vážné socioekonomické následky (42). Jenom v průběhu pandemie v letech 1918-1919 onemocněla chřipkou jedna čtvrtina světové populace a více než 20 milionů lidí v souvislosti s chřipkou zemřelo (43;44). Způsobila tedy větší ztráty na životech než 1. světová válka a lze ji srovnávat s epidemiemi moru, cholery nebo pravých neštovic.

2.2.1. Z historie

Epidemie vysoce nakažlivých onemocnění dýchacích cest, které jsou popisovány už od středověku, měly podle doložených zpráv velmi podobný průběh jako epidemie vyvolané virem chřipky. Od roku 1700 až do roku 1890 proběhlo nejméně 10 pandemií způsobujících akutní respirační onemocnění lidí. Díky séroarcheologickým studiím nyní

víme, že pandemie v letech 1889-1890 byla skutečně způsobena virem chřipky - subtypem A(H₂N₂).

První pandemii chřipky ve 20. století byla tzv. španělská chřipka (1918-1919). Ničivé následky pandemie sice nutily vědce celého světa k nalezení etiologického původce této katastrofy, ale teprve v roce 1931 R. Shope izoloval první virus chřipky, a to z nemocného prasete. O dva roky později, během chřipkové epidemie ve Velké Británii, se W. Smithovi a jeho spolupracovníkům z Londýna podařilo izolovat první lidský virus chřipky z výtěrů pacientů, kterými infikovali dosud neobvyklý zvířecí druh - fretku. Tento výsledek potvrdila v roce 1936 laboratorní kontaminace na stejném pracovišti; skutečně šlo o virus lidské chřipky. Teprve detekce protilátek proti dříve prodělaným chřipkovým infekcím v sérech různě starých lidí, kteří žili v období před pandemií, poskytla v roce 1983 nepřímý důkaz předcházející cirkulace viru chřipky A(H₁N₁) v populaci. Částečná nukleotidová sekvence viru „španělské chřipky“ z formalínem fixovaného a do parafínu zalitého vzorku plicní tkáně vojáka, který zemřel v roce 1918, byla získána až v roce 1997. Taubenberger a jeho spolupracovníci tím prokázali, že etiologickým agens v pandemii 1918-1919 byl virus chřipky A(H₁N₁) blízce příbuzný viru chřipky prasat (45).

V roce 1940 izoloval T. Francis virus chřipky, který se od prvního víru z roku 1933 lišil a byl označen jako virus chřipky typu B. První virus chřipky dalšího odlišného typu – C prokázal R. M. Taylor v roce 1947. V následujících létech byly izolovány viry chřipky z dalších živočišných druhů. Pro Československo bylo významnou událostí, že se v roce 1956 českým vědcům podařilo izolovat první virus chřipky z koní (46).

Chřipka se v Československé republice stala povinně hlášeným onemocněním v roce 1920 (47). Historické práce sice uvádějí, že „hlášení chřipky je však tak nespolehlivé, že jeho výsledky nedají se použít pro sledování této epidemické nemoci“ (47), toto tvrzení však nelze brát zcela vážně. S výjimkou skutečností, které v té době nebyly ještě známy, jsou popisy (chřipky i řady dalších) onemocnění z té doby nesmírně přesné a výstižné. Metody deskriptivní epidemiologie používané v té době byly nesmírně podrobné a v některých ohledech je můžeme obdivovat i v současnosti.

Obr. 1. Výskyt chřipky v roce 1895

(Převzato z: Pelc H. Zpráva o poměrech a zařízeních zdravotních v Království českém za léta 1893-1895, c. k. místodržitelství, 1897)

Tab. 30.

Chřipka 1895.

Číslo položky	Politický okres	Počet obcí nemocných postižených	Důležitější epidemie vypukly v	Obyvatelstvo postižených obcí	Epidemie trvala		Počet nemocných	Počet zemřelých	Ze sta onemocnělých zemřelo	Z 10.000 obyvatelů okresu zemřelo	Z dospělých onemocnělých
					od	do					
1	Aš	1		15557	1/2	27/2	120	.	.	.	120
2	Horšuv Týn .	1		1854	5/5	20/5	20
3	Blatná . . .	3		5984	30/3	11/5	39	.	.	.	20
4	Lípa Česká*)	1		9269	1894	31/1	1	.	.	.	1
5	Most	4		9207	18/2	30/3	260	.	.	.	241
			Horní Litvínově	5200	18/2	30/4	198	.	.	.	179
6	Budějovice . .	1		28491	5/4	30/4	40	.	.	.	34
7	Brod Něm. . .	4		7898	10/3	25/12	20	.	.	.	18
8	Cheb	4		3457	3/3	28/4	143	.	.	.	137
9	Falknov	44		53962	20/1	30/4	834	12	1·13	1·67	787
			Chodově	3855	3/3	4/5	197	1	.	.	187
			Neusattlu	3171	3/2	27/4	118	1	.	.	109
10	Jablonec . . .	2		20930	5/3	31/12	73	.	.	.	723
11	Kraslice	27		38583	27/3	27/4	546	7	1·28	1·44	467
			Kraslicích	9780	27/3	1/6	308	2	.	.	282
12	Vrchlabí . . .	3		4872	17/5	30/6	57	2	3·50	0·46	45
13	Hořovice . . .	4		14860	5/4	25/5	66	1	1·50	0·11	54
14	Jáchymov . . .	4		8272	1/3	2/4	55	3	5·45	1·11	50
15	Boleslav Ml. . .	5		6171	6/3	27/4	37	.	.	.	37
16	Kadaň	3		15270	10/3	20/7	57	2	3·50	0·29	54
17	Kaplice	6		6622	4/4	7/5	48	2	4·16	0·37	39
18	Vary Karlovy . .	10		29371	1/4	3/5	288	1	0·30	0·14	245
19	Kladno	1		17215	20/3	20/5	46	2	4·34	0·33	26
20	Klatovy	4		11111	15/3	20/5	172	2	1·15	0·28	148
			Klatovech	10811	15/3	15/4	168	1	.	.	144
21	Dvůr Králové . .	2		9951	1/4	13/5	123	.	.	.	113
				22053	4/3	17/8	84	3	3·57	0·24	83
48	Teplice	9		7294	4/3	30/3	2	.	.	.	2
49	Děčín	1		57264	24/2	15/5	3581	17	0·47	2·20	2751
50	Trutnov	50		13390	21/2	27/4	776	7	.	.	602
			Trutnově	1163	12/3	27/4	207	1	.	.	147
			Marešově I. díl	1111	10/3	27/4	222	.	.	.	167
			Pilníkově	1142	4/3	27/4	145	.	.	.	165
			Vlčicích	1554	1/3	27/4	201	.	.	.	170
			Vrajetu	1911	1/3	27/4	882	3	.	.	683
			Velkých Bukách	5963	22/3	14/5	22	.	.	.	19
51	Turnov	1		142145	17/3	22/6	334	5	1·49	0·36	232
52	Kr. Vinohrady . .	34		3223	8/9	15/10	59	.	.	.	50
53	Třeboň	4		189598	1/3	15/4	296	10	3·37	0·54	255
54	Mag. pražský*)	1		33000	7/2	1/4	39	.	.	.	31
55	Mag. liberecký	1									
	Král. České . .	328		1041008			9072	92	1·01		7350

*) 7 osob zůstalo v ošetřování od loňska.

*) Z těch 21 nepríslušníků.

Chřipka byla obsahem dokonce již i našich prvních celostátních publikací o zdravotní situaci (Zpráva o poměrech a zařízeních zdravotních v Království českém za léta 1893-95) (48). V textu je kromě deskriptivních údajů uveden výstižný komentář: „**Rozumí se samo sebou, že při všech chřipkových epidemiích mnoho případů méně povážlivých evidenci se vymyká, už z toho důvodu, že není tu potřeba pomoci lékařovy**“ (48). Na obr. 1 je pro ilustraci uveden popis výskytu chřipky v roce 1895, který opět dokumentuje nesmírnou podrobnost používaných metod.

2.2.2. Taxonomie a biologické vlastnosti viru

Chřipkové viry se řadí do čeledi *Orthomyxoviridae*. Z epidemiologického hlediska rozlišujeme tři odlišné typy viru (A, B a C), které taxonomicky představují tři rody – Influenzavirus A, B a C. Genom viru tvoří jednořetězcová RNA negativní polarity rozdělená do více segmentů (8 u chřipky typu A a B, 7 u typu C). Struktura viru chřipky typu A a B si je velmi podobná. Povrchové glykoproteiny hemaglutinin a neuraminidáza jsou hlavními strukturními a antigenními složkami virové částice, jsou proměnlivé a podmiňují rozlišení antigenních subtypů a jejich variant u virů chřipky A a B. Virus chřipky typu C má pouze jeden povrchový glykoprotein, který se uplatňuje buď jako hemaglutinin, nebo jako enzym destruující receptory, který však nemá povahu neuraminidázy, ale esterázy. Virus chřipky typu C nikdy nevyvolává epidemie, způsobuje většinou lehké infekce horních cest dýchacích a spojivek.

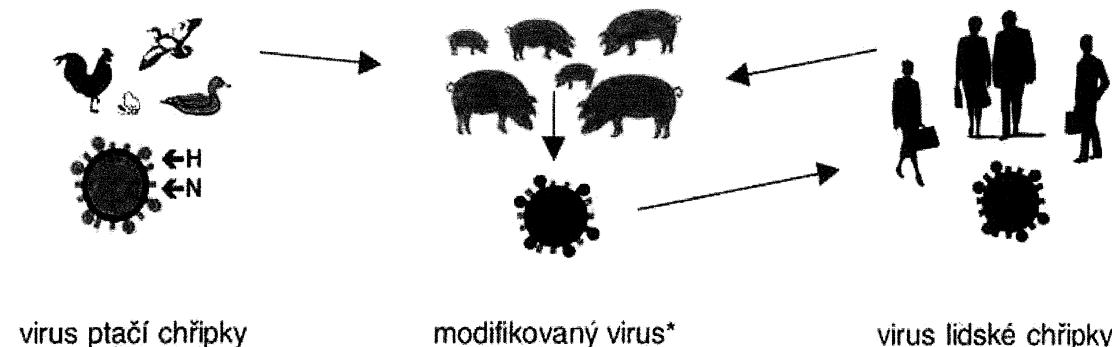
Chřipka je typem virového onemocnění, jehož nejdůležitějším rysem je stálá evoluce virového původce. Základním genovým rezervoárem virů chřipky typu A jsou divoce žijící stěhovaví vodní práci, přirozenými hostiteli jsou kromě člověka prase, kůň, domácí i divoce žijící ptáci a někteří mořští savci (např. tuleni a velryby). Virus typu B je omezen jen na člověka a virus typu C byl izolován z člověka a prasete. Všech 16 hemaglutininů (H) chřipky bylo prokázáno u vodních ptáků, 3 u člověka (H_1 , H_2 , H_3), 2 u prasat (H_1 , H_3) a 2 u koní (H_3 , H_7). Je třeba doplnit, že celkový počet hemaglutininů i neuraminidáz zřejmě nemusí být definitivní, neboť např. v roce 2005 byla publikována identifikace nového subtypu H_{16} , který byl nalezen u racků ve Švédsku (49). Viry chřipky se replikují u většiny savců včetně člověka v buňkách řasinkového epitelu

dýchacího ústrojí a šíří se kapénkovou infekcí. U ptáků se pomnožují přednostně v buňkách střevního traktu a šíří se fekáliemi.

Orthomyxoviry se liší od většiny ostatních virů zejména tím, že mají segmentovaný genom. Tato relativně neobvyklá vlastnost jim poskytuje možnost využívat značného stupně genetické variability. Bodovými mutacemi a následnými změnami sekvence aminokyselin ve vazebném místě (epitopu), na který se váží protilátky, dochází k plynule probíhajícím menším antigenním změnám převládajících subtypů virů chřipky typu A. Tyto změny se označují jako antigenní drift, podobné najdeme i u viru typu B. Driftové změny chřipkového viru soustavně pokračují a dochází k reinfekci osob, které již nákazu daným subtypem překonaly. Následkem těchto drobných změn povrchových antigenů v rámci subtypu jsou každoroční menší epidemie.

U lidských virů chřipky typu A bývá v různých intervalech (10-30 let) zaznamenána zásadní změna povrchových antigenů kmenů cirkulujících v populaci, čímž dojde ke vzniku zcela nového subtypu. Takové změny, týkající se buď jen hemaglutininu nebo i neuraminiidázy, se nazývají antigenní shift. Nový subtyp se objevuje náhle a rychle převládne. Síření infekce má zpravidla pandemický charakter a kromě velkého počtu nemocných je také provázeno výrazným vzestupem úmrtnosti. Předpokládaný mechanismus vzniku antigenního shiftu je schématicky zobrazen na obr. 2. (50).

Obr. 2. Předpokládaný mechanismus vzniku antigenního shiftu.
(Prevzato z: Kyncl J, Marešová V, Přiborský J, Zicha J, Žampachová E: Zásady diagnostiky a terapie chřipky, Maxdorf, 2000)



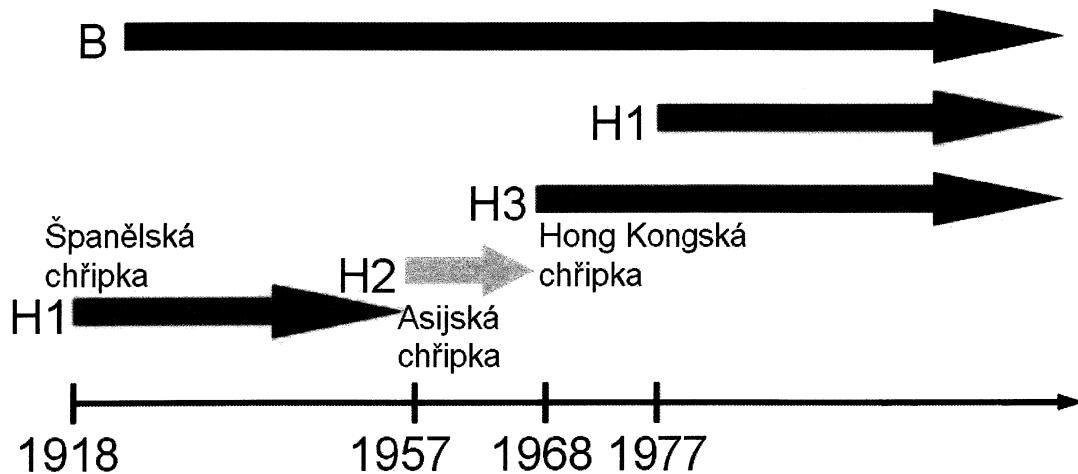
H = hemagglutinin, *N* = neuraminidase

* - nová, pro člověka infekční antigenní varianta viru chřipky, na kterou není vytvořena imunita

2.2.3. Pandemie ve 20. století

Ke vzniku chřipkové pandemie může dojít, pokud se vyskytne nový chřipkový virus, proti kterému nemá většina světové populace protilátky. Toto bylo pozorováno pouze u virů chřipky typu A, které v přírodě existují ve velkém množství antigeně odlišných subtypů. Mechanismus vzniku takového viru, tzv. antigenní shift, byl popsán již výše. Aby mohlo dojít k pandemii, musí mít nově vzniklý chřipkový virus navíc ještě potenciál způsobovat klinicky manifestní onemocnění lidí a zejména pak vlastnosti umožňující přímé šíření z člověka na člověka. Výskyt chřipkových virů u lidí od roku 1918 zobrazuje obrázek 3.

Obr. 3. Výskyt chřipkových virů u lidí od roku 1918



Největší chřipkovou pandemií, která postihla lidstvo ve 20. století, byla pandemie v letech 1918-1919. Byla vyvolána subtypem A(H₁N₁), který vyvolal tzv. španělskou chřipku. První vlna onemocnění začala na jaře 1918 v USA a mezi americkými sbory, které se vylodčovaly v severní Francii. Do června 1918 se virus rozšířil do dalších zemí včetně Indie, Číny, Nového Zélandu a oblastí v jižním Pacifiku. Druhá vlna začala v srpnu 1918 a pokud jde o úmrtnost, byla mnohem devastující. Začala ve stejné době v Africe a v Evropě, v USA byla mírně opožděná (září-říjen). Třetí vlna onemocnění začala na jaře roku 1919. Pouze v Austrálii se podařilo odsunout začátek pandemie až do ledna 1919, především vzhledem k uplatňování celé řady karanténních opatření (která jsou v současnosti v zásadě nerealizovatelná díky letecké dopravě). Většina světové populace tedy byla postižena během deseti měsíců, pouze údaje z oblasti jižní

Ameriky jsou nedostupné (51). Do jisté míry překvapivou informací může být skutečnost, že v některých vojenských útvarech v Evropě se již 1 rok před začátkem pandemie vyskytly epidemie onemocnění se smrtností až 50% a teprve zpětně bylo možné potvrdit, že to již způsobil pandemický kmen chřipky. Jednou z řady hypotéz je, že za vznik pandemického kmene tak možná může být zodpovědné nahromadění velkého počtu pohybujících se vojáků v severní Francii, spolu s bezprostřední blízkostí živých prasat a koní, navíc v těsném sousedství husích, kachních a kuřecích tržišť, a jako přídatný faktor použití mutagenních bojových látek (52).

Při porovnání s průměrnými počty úmrtí během každoročních epidemií byly počty zemřelých při pandemii 1918-1919 značně vyšší. V civilní anglické populaci došlo téměř ke 200 000 úmrtím, ve Spojených státech amerických zemřelo půl milionu lidí. V Africe se počty úmrtí v důsledku pandemie odhadují na 1,5 – 2 miliony a v Indii na 7 milionů. Konzervativní celosvětový odhad úmrtí přesahuje 20 milionů obyvatel; nicméně vzhledem k neexistenci adekvátních záznamů o počtech zemřelých v mnoha zemích se za přesné údaje považuje spíše rozpětí 40 – 50 milionů lidí (51;52).

Další pandemie 20. století vznikla v r. 1957, kdy nový virus chřipky typu A způsobil tzv. asijskou chřipku. Šlo o druhý subtyp tohoto lidského viru dnes nazvaného A(H₂N₂). Počty úmrtí, které pandemie 1957-1958 způsobila, se odhadují přibližně na 1 - 4 miliony osob (z toho asi 80 000 v USA) (51;53). Ve srovnání s předchozí pandemií byla mírnější.

V r. 1968 tento subtyp viru chřipky vystřídal třetí subtyp - A(H₃N₂), který byl příčinou pandemie „hongkongské chřipky“. Tato pandemie neměla tak vysokou úmrtnost jako obě předchozí a to zřejmě proto, že došlo pouze ke změně hemaglutininového antigenu; maximální počet úmrtí je odhadován na 2 miliony osob (53). Subtyp viru A(H₂N₂) nebyl od té doby v populaci prokázán. Přestože se pandemický virus rozšířil po celém světě během šesti měsíců (v Evropě byl poprvé izolován v září 1968), pandemie jím vyvolaná začínala v některých oblastech až s určitým odstupem (v Evropě především až v zimním období 1969-1970).

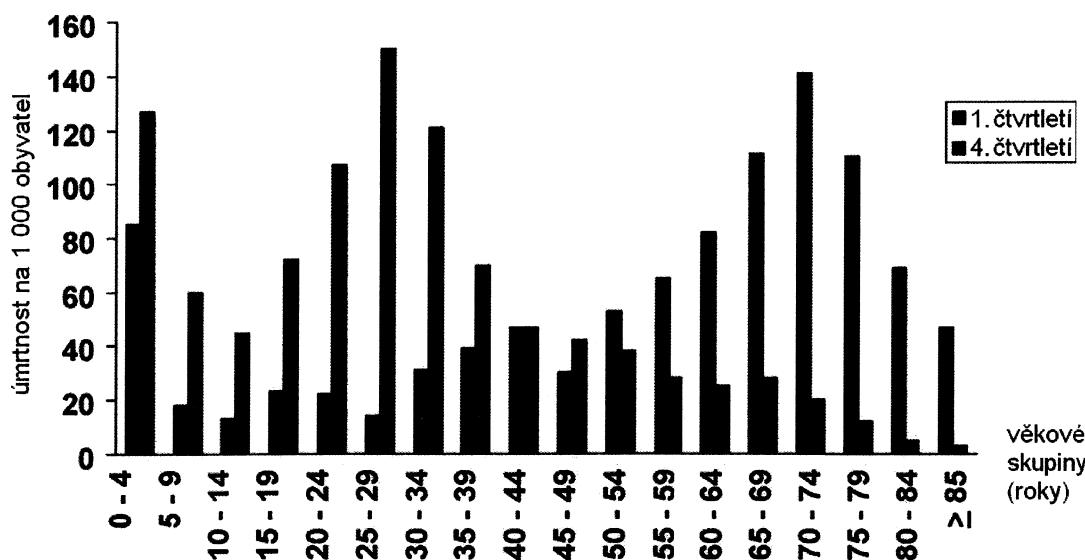
Zajímavé je, že v r. 1977 se znovu objevil virus původního subtypu A(H₁N₁) v epidemii (podle některých pandemii) tzv. ruské chřipky. Způsobil především

onemocnění mladých osob, které se s tímto subtypem nesetkaly před rokem 1957, ale v té době cirkulující subtyp A(H₃N₂) nenahradil. V lidské populaci tedy v současné době cirkuluje, kromě virů chřipky typu B a C, virus chřipky subtypu A(H₁N₁) a A(H₃N₂). V roce 2001 se dále objevil virus chřipky A(H₁N₂), který pravděpodobně vznikl v důsledku genetického reassortmentu mezi lidským virem A(H₃N₂) a A(H₁N₁). Uvedený virus začal též celosvětově cirkulovat.

Zatímco v průběhu každoročních epidemií dochází k úmrtím především v nejvyšších věkových skupinách, při pandemii tomu obvykle bývá jinak (43;54). U věkové skupiny osob mladších 65 let byla zaznamenána přibližně polovina úmrtí v důsledku pandemie 1968-1969 a ještě větší postižení při pandemii 1957-1958 a 1918-1919. Téměř polovina z úmrtí při pandemii 1918-1919 nastala u dospělé populace ve věku 20-40 let.

Postižení věkových skupin se však může lišit i v průběhu pandemie. V prvním čtvrtletí roku 1918 (1. vlna pandemie) docházelo v Anglii a Walesu k úmrtím obdobně jako při běžné epidemii, pouze počty zemřelých byly mnohem vyšší. Ve třetím a zejména pak ve čtvrtém čtvrtletí roku 1918 (2. vlna pandemie) se výskyt úmrtí radikálně změnil a docházelo k nim především u mladých dospělých lidí (graf 5) (51).

Graf 5. Věkově specifická úmrtnost v 1. a 4. čtvrtletí 1918 v Anglii a Walesu
(převzato z: Nguyen-Van-Tam JS, Hampson AW. The epidemiology and clinical impact of pandemic influenza. Vaccine, 2003.)



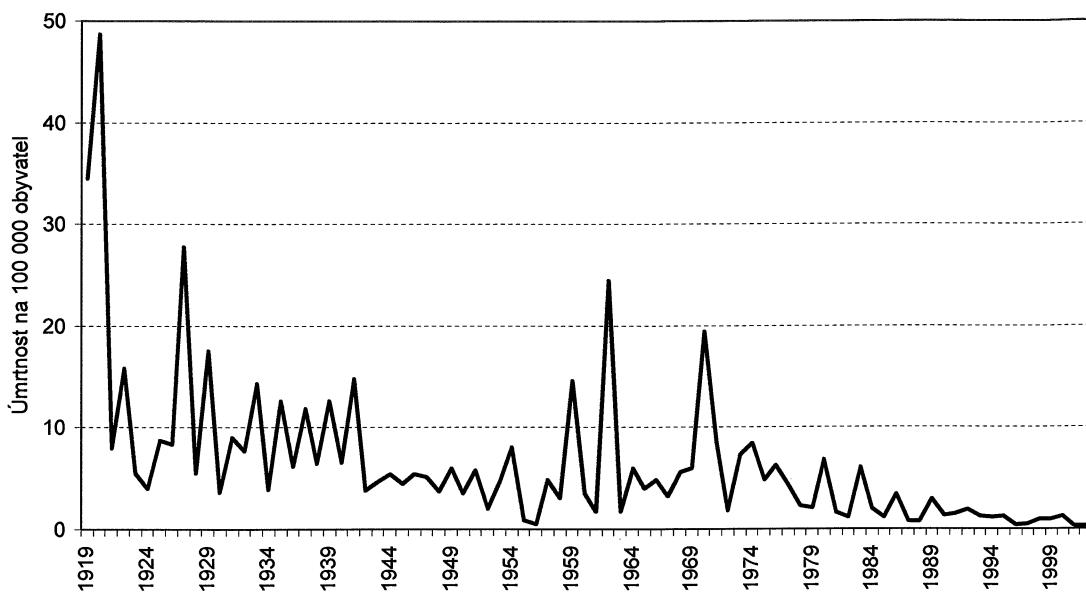
2.2.4. Epidemiologie a průběh onemocnění

K přenosu onemocnění dochází především známou kapénkovou infekcí, neboť nemocný člověk vykašlává značné množství infekčního aerosolu. Onemocnět chřipkou je možné v kterémkoli věku, většinou bývá nejvíce nemocných mezi školáky a ve skupině mladých dospělých. Po prodělaném onemocnění se vyvíjí typově i subtypově specifická imunita. Protilátky tudíž nechrání před onemocněním novou variantou subtypu viru. Rýma, nasofaryngitida, tj. kýchání či kašlání mechanicky napomáhají šíření i dalších agens, včetně bakteriálních, což potvrzuje např. zvýšený výskyt invazivních meningokokových onemocnění během chřipkové epidemie a krátce po ní, kdy se navíc ještě uplatňuje faktor snížené imunity oslabeného organismu po onemocnění chřipkou (55).

Virus chřipky je v době epidemie hlavním původcem respiračních onemocnění ve všech věkových kategoriích. Mimo chřipkovou epidemii lze virus chřipky ojediněle izolovat při sporadických onemocněních horních dýchacích cest. Každoročně je virem chřipky infikována asi jedna třetina obyvatel. Z tohoto počtu přibližně čtvrtina zjevně onemocní a 1% musí být hospitalizováno, přičemž 8% hospitalizovaných zemře (56). V České republice je každoročně hlášeno několik desítek až stovek úmrtí na chřipku, tj. v přímé souvislosti s chřipkou (graf 6). Další úmrtí pak nastávají na komplikace chřipkového onemocnění a chřipka je uvedena jako vedlejší diagnóza, případně ani není uvedena v úmrtním listě (57).

U perakutně probíhajících případů může chřipka končit úmrtím v prvních dnech onemocnění za příznaků těžké intoxikace, a to i u lidí do té doby zcela zdravých. Nekomplikované onemocnění trvá přibližně 1 týden, avšak u značné části případů dochází ke komplikacím, jako je např. otitida, sinusitida a pneumonie. Komplikace chřipky, zejména pneumonie, ohrožují především život osob oslabených jinou chronickou nemocí nebo ve vysokém věku. Komplikace bývají vyvolány především bakteriálními agens, v případě pneumonie se často uplatňuje *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* nebo *Haemophilus influenzae*. Poslední uvedené agens poprvé izoloval Pfeiffer v roce 1892 ze sputa nemocného chřipkou, což spolu s nezbytností krve pro růst mikrobů určilo i jeho jméno (58).

Graf 6. Hlášená úmrtnost na chřipku v České republice, na 100 000 obyvatel, 1919-2002 (Zdroj: Český statistický úřad)



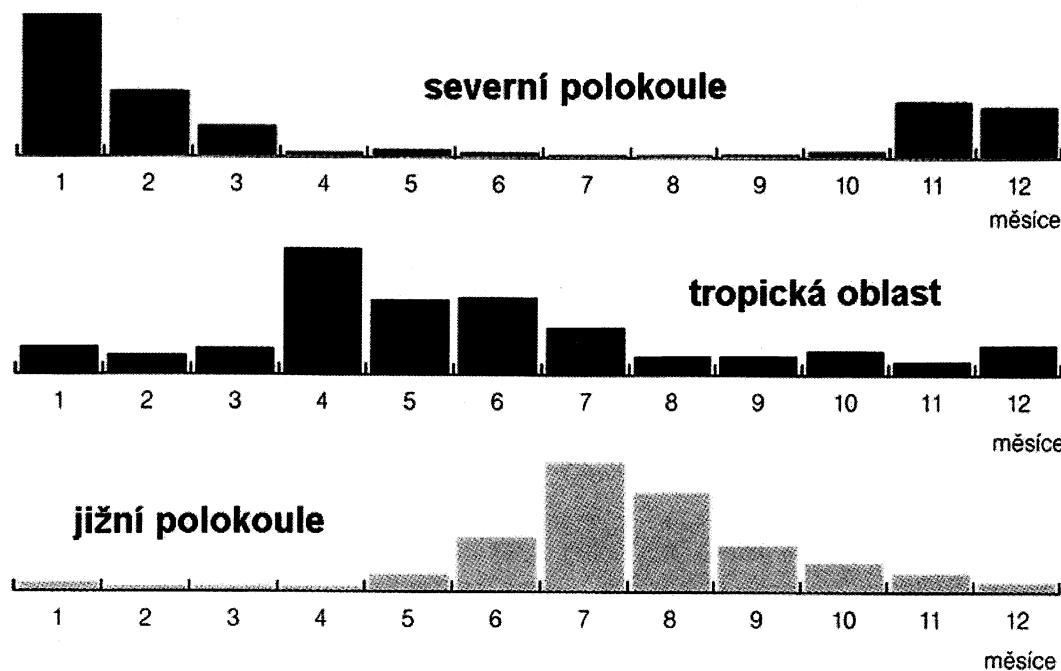
Chřipková epidemie má sezónní charakter. V Evropě vzniká obvykle na přelomu kalendářního roku a zpravidla trvá 4 – 8 týdnů (59). K šíření chřipkového viru v Evropě většinou dochází od západu k východu. Je tomu tak nejen v současnosti (60), ale uvedený jev byl pozorován již ve 20. letech 20. století (47), tedy dávno před zahájením letecké přepravy osob, která má nyní významný vliv na rychlosť šíření chřipky na velké vzdálenosti.

Na jižní polokouli probíhá obvykle chřipková epidemie také v průběhu zimního období, které je ale v dané oblasti od května do září. V tropické oblasti není přesně ohraničené období výskytu. Chřipkové viry je možné u lidí izolovat v průběhu celého roku, vyšší výskyt onemocnění však bývá v době monzunů (42;61;62). Sezónní výskyt chřipky v jednotlivých zeměpisných šírkách schématicky znázorňuje obr. 4.

Výskyt konkrétního chřipkového viru v jednotlivých zemích severní nebo jižní polokoule bývá většinou podobný – epidemie, které jsou jím způsobeny, mají obvykle obdobný rozsah i časovou souslednost. Tyto společné rysy ve výskytu chřipky v zemích umístěných na protichůdných hemisférách však nebývají pozorovány, což vede ke spekulacím o nepravidelných cestách šíření viru mezi zemskými polokoulemi (63).

Obr. 4. Sezónní výskyt chřipky

(Převzato z: Havlík J, Beran J. Chřipka. Klinický obraz, prevence, léčba. Praha: Maxdorf, 2002 podle Textbook of Influenza)



I v rámci stejné hemisféry nicméně existují výjimky. Během období, ve kterém existují porovnatelná data, došlo k nejvýznamnějšímu rozdílu v nemocnosti a úmrtnosti mezi zeměmi při chřipkové epidemii zřejmě roku 1951. Úmrtnost na pneumonii a chřipku v Kanadě a v Anglii a Walesu byla v průběhu epidemie v roce 1951 větší než při pandemii v roce 1957 a 1968 (64). Celková úmrtnost v Liverpoolu při epidemii v roce 1951 byla dokonce o 40% vyšší než při pandemii roku 1918. Geografické rozdíly následků této epidemie jsou vysvětlovány současnou cirkulací dvou různých chřipkových kmenů s odlišnou virulencí (64). Určitou analogií, ovšem bez rozdílů v nemocnosti nebo úmrtnosti, byl výskyt zcela nového subtypu H₁N₂ před několika lety, který společně cirkuloval vedle běžně se vyskytujících virů ve většině evropských zemí. V sezóně 2001-02 byl rekombinantní subtyp H₁N₂ dokonce významným původcem onemocnění ve Velké Británii a Irsku (65).

Vzhledem k podobnosti klinických příznaků onemocnění souhrnně označovaných jako ARI bývají jednotlivé respirační infekty často zaměňovány, což vede k podceňování chřipkové infekce i preventivní vakcinace. Přitom chřipka je schopná

způsobit úmrtí, a to jak přímo (primární chřipková komplikace vyvolaná virem chřipky), tak zejména nepřímo (sekundární nechřipková komplikace plicního i mimoplicního charakteru v návaznosti na proběhlou chřipkovou infekci). Jak již bylo uvedeno, nejvyšší výskyt nemocných je zjišťován u školáků a u mladých dospělých, maximum počtu úmrtí je však mezi seniory. Vakcinace proti chřipce je nejdůležitějším preventivním opatřením, její účinnost i cost-effectiveness byla opakováně prokázána (20;66-69). Tato problematika je detailněji uvedena v následující kapitole. Podávání protivirových přípravků má pouze doplňující efekt (70).

2.2.5. Možnosti prevence chřipky

Vakcinace

Očkování proti chřipce je nejdůležitější metoda prevence chřipky a jejích závažných komplikací. Každoroční očkování proti chřipce je doporučeno osobám, u kterých je žádoucí snížit pravděpodobnost chřipkové infekce. U těchto osob je totiž zvýšené riziko vzniku komplikací po onemocnění chřipkou. Očkování vede ve všech věkových skupinách k výraznému snížení výskytu onemocnění chřipkou a ke snížení návštěv lékaře. Dále snižuje potřebu hospitalizace a možnost úmrtí ve skupině rizikových osob, výskyt zánětu středního ucha u dětí a pracovní neschopnost u dospělých (viz níže).

Humánní inaktivovaná očkovací látka proti chřipce připravená kultivací viru na vejcích se používá více než půl století. Vakcína na počátku své výroby obsahovala značné množství vaječných proteinů a endotoxinu, což vedlo ke značné reaktogenitě. Zavedení pásmové ultracentrifugace v polovině 60. let 20. století snížilo množství nevirových nečistot a tím i reaktogenitu. V návaznosti na tuto změnu přípravy vakcíny se při zacházení s celovirovými částicemi začalo používat detergentů a organických rozpustidel (jako je éter), a tím bylo možné produkovat štěpenou vakcínu. Konečně v polovině 70. let se začala vyrábět tzv. subjednotková vakcína, a to pomocí technik separování virových membránových proteinů od virového jádra. Pokud jde o tvorbu protilátek po očkování, mezi celovirovou, štěpenou a subjednotkovou vakcínou není významný rozdíl (71).

K očkování se v současnosti používá především inaktivovaná očkovací látka obsahující purifikované části usmrceného viru chřipky (štěpené vakcíny), resp. jeho

povrchové antigeny (subjednotkové vakcíny). Protichřipková vakcína je trivalentní (třísložková) - obsahuje části tří nejčastěji se vyskytujících chřipkových virů, tj. hemaglutinin typu A (H_3N_2), hemaglutinin typu A (H_1N_1) a hemaglutinin typu B. Antigenní složení chřipkových vakcín je každoročně upravováno podle doporučení Světové zdravotnické organizace. Účinnost vakcíny totiž závisí na antigenní podobnosti kmene viru ve vakcíně s aktuálně cirkulujícími viry. Změna antigenicity nemusí zabránit vzniku onemocnění, ale sníží se závažnost infekce a zmenší procento komplikací a úmrtí. Očkuje se každý rok před sezónou, tj. nejlépe od září do listopadu. Imunita se vyvine přibližně za 2 týdny po vakcinaci.

Vakcinace se zvláště doporučuje osobám s chronickým onemocněním, u nichž onemocnění chřipkou obvykle vede ke zhoršení jejich základního onemocnění. Patří sem zejména:

- onemocnění a poruchy funkce průdušek a plic,
- srdeční onemocnění,
- chronické onemocnění ledvin,
- diabetes mellitus, cystická fibróza,
- poruchy imunity a krvetvorby,
- pacienti, kteří jsou léčeni imunosupresivy, cytostatiky a zářením,
- děti a mladiství (od 6 měsíců do 18 let), kteří jsou léčeni přípravky s kyselinou acetylsalicylovou, protože mohou být ohroženi po infekci chřipkou Reyeovým syndromem.

Vakcinace se dále doporučuje:

- osobám starším 65 let, které nepatří k výše uvedeným rizikovým skupinám,
- osobám vystaveným zvýšenému riziku infekce v zaměstnání, např. pracovníci ve zdravotnictví.

Vakcinace proti chřipce se nedoporučuje osobám přecitlivělým na vaječný albumin (vakcína se připravuje kultivací na slepičích vejcích) nebo na jiné složky vakcíny, ani osobám, které v minulosti měly alergickou reakci na očkování proti chřipce. U nových vakcín připravovaných pomocí buněčných kultur (MDCK buňky nebo Vero buňky) (72;73) riziko takovéto alergické reakce odpadne, nicméně tyto očkovací látky zatím

nejsou v běžném používání. Očkování je dále třeba odložit u osob, které mají akutní horečnaté onemocnění.

Skupiny osob, pro něž je očkování proti chřipce doporučeno, se v jednotlivých zemích mírně odlišují (67;74;75). V Evropě však obvykle platí výše uvedený seznam s případnými mírnými úpravami. V řadě zemí včetně České republiky je pro určité „rizikové skupiny“ osob očkování poskytováno za výhodnější cenu nebo dokonce bezplatně. Tyto úpravy se však velmi často mění a není účelem této práce uvedené rozdíly podrobně analyzovat.

Strategie očkování proti chřipce je v USA poněkud odlišná od doporučení používaných v jednotlivých evropských zemích. Americká doporučení zahrnují nejen cílové skupiny v Evropě obvyklé, ale též i některé další skupiny obyvatel, které americké Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) považuje za rizikové z hlediska onemocnění chřipkou. V USA se již několik let očkování doporučuje zdravým dospělým ve věku 50-64 let. Od roku 2004 je též očkování doporučováno dětem ve věku 6-23 měsíců a osobám v úzkém kontaktu s nimi (12). CDC očkování doporučuje také těhotným ženám (v ostatních státech světa obvykle nepatří mezi rizikovou skupinu). Za užitečné lze jistě považovat doporučení, aby byli očkováni rodinní příslušníci vysoce rizikových osob, kteří by je bez očkování mohli nakazit. Toto doporučení platí kromě USA již i v některých dalších zemí včetně evropských (67).

V USA je nyní nově používána kromě „klasické“ inaktivované očkovací látky také intranazálně podávaná živá atenuovaná očkovací látka. Vzhledem k obavám z možné cirkulace chřipkového viru po podání živé očkovací látky, by tato očkovací látka neměla být podána rodinným příslušníkům a zdravotníkům, kteří pečují o osoby v těžké imunosupresi (12). Bohaté zkušenosti s podáním živé očkovací látky má kromě USA také Rusko. V Evropě se však rutinně používá pouze neživá očkovací látka.

Účinnost očkování závisí, kromě podobnosti aktuálně cirkulujícího chřipkového viru s virem obsaženým ve vakcíně, zejména na věku a imunitním stavu očkovaného. Většina očkovaných dětí a mladých dospělých si po očkování vytvoří vysoké titry protilátek, které zabrání onemocnění vyvolanému podobným chřipkovým kmenem (74;76;77). U zdravých dospělých do 65 let správně zvolené očkování zabrání

onemocnění v 70-90% (21;78-82). U osob nad 65 let a osob s chronickými nemocemi může očkování vyvolat nižší tvorbu protilátek než u zdravých mladých dospělých, a tím mohou zůstat vnímat na chřipkové onemocnění. Přestože účinnost očkování u těchto osob je maximálně 60% (obvykle však jen 30-40%), očkování snižuje potřebu hospitalizace pro pneumonii a chřipku o 30-70% a riziko úmrtí dokonce o 80% (66;83;84).

Přestože se hladina proočkovanosti především v posledních deseti letech zvyšuje, stále jsou ještě velké možnosti na její další zvýšení. V sezóně 2003/04 bylo na celém světě distribuováno přes 290 miliónů dávek trivalentní vakcíny (85). Používání vakcíny v jednotlivých zemích je značně odlišné. Přehled distribuovaných očkovacích látek proti chřipce v roce 2000 v padesáti zemích je přehledně zobrazen v grafu 7. Cílené kampaně v dalších letech vedly k dalšímu zvýšení počtu podaných očkovacích dávek, značné rozdíly však stále přetrhávají. Zatímco západoevropské státy mají nyní proočkovanost 20-25% (v rizikových skupinách okolo 70%), USA a Kanada téměř 35% populace, Česká republika v roce 2004 mírně přesáhla 7%.

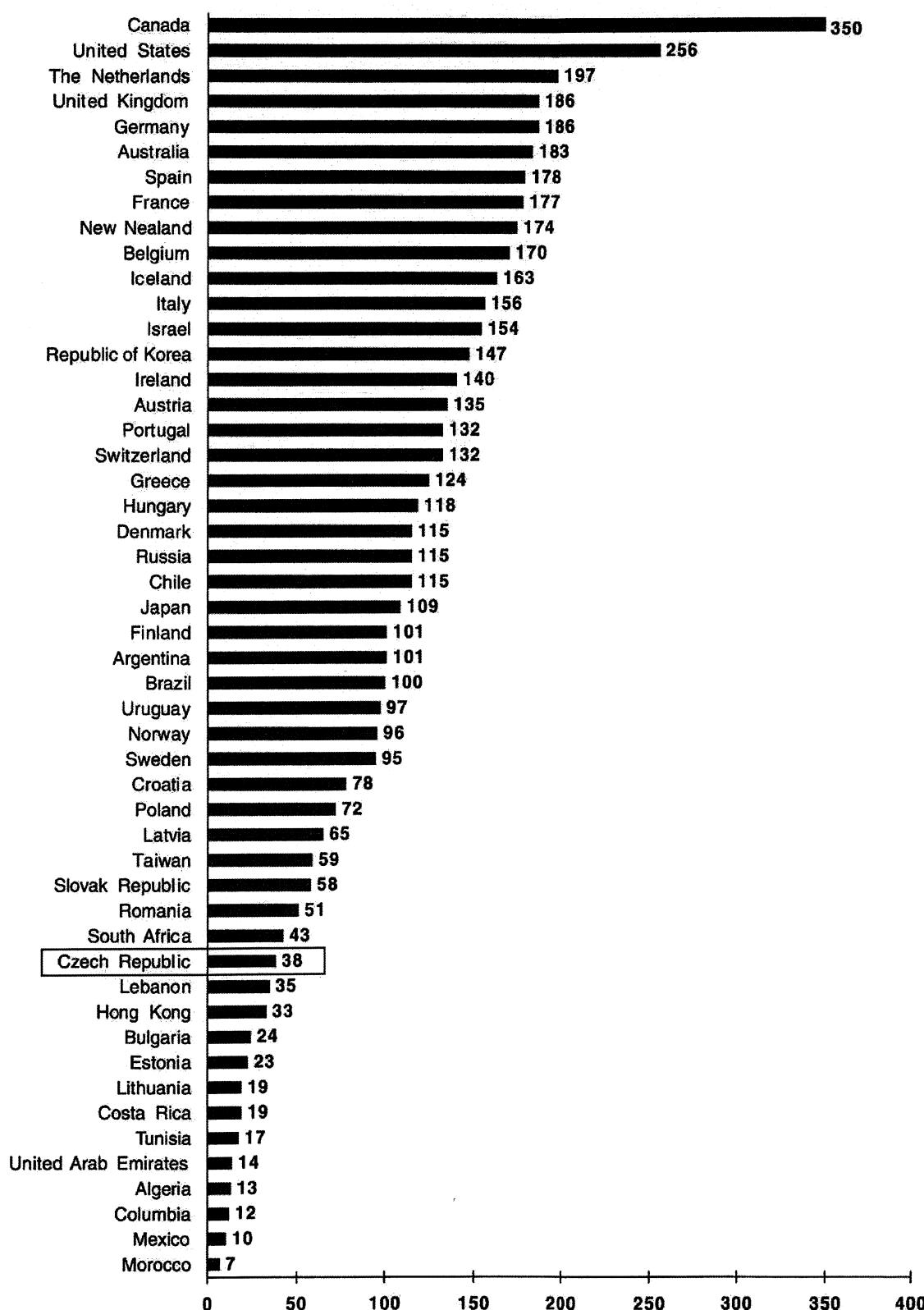
Antivirotyka

Aby byl přehled úplný, je třeba zmínit existenci antivirotyk (virostatik). Jejich použití je profylaktické i terapeutické, doporučuje se zejména u vysoce rizikových pacientů. Blokují množení viru ve sliznici dýchacích cest a tak snižují intenzitu chřipkových příznaků a zkracují dobu trvání onemocnění.

Antivirotyka starší generace – inhibitory proteinu M2 (amantadin a rimantadin) se používají přibližně již od 80. let 20. století. Tato antivirotyka jsou levná, ale mají řadu omezení (účinkují jen u chřipky typu A, často u nich dochází ke vzniku rezistentních kmenů) a nežádoucích účinků (jsou to léky používané primárně jako antiparkinsonika). Jejich použití se navíc, s výjimkou USA a zemí bývalého Sovětského svazu, významně neujalo.

Na přelomu století se objevila nová antivirotyka – blokátory neuraminidázy (zanamivir a oseltamivir) (86-89). Účinkují u chřipky typu A i B, jsou prakticky bez vedlejších účinků a neovlivňují isoenzymy cytochromu P 450. Vznik rezistentních kmenů je zatím minimální. Nová antivirotyka se v současnosti pravděpodobně nejvíce

Graf 7. Počty distribuovaných vakcín proti chřipce na 1000 obyvatel v roce 2000
 (Převzato z: van Essen GA, Palache AM, Forleo E, Fedson DS. Influenza vaccination in 2000: recommendations and vaccine use in 50 developed and rapidly developing countries. Vaccine 2003)



používají v Japonsku. V USA a v západoevropských zemích existují doporučení pro jejich používání (12;75), v ČR se vzhledem k vysoké ceně používají minimálně (z prostředků zdravotního pojištění jsou hrazeny jen pro tři přesně definované vysoce rizikové skupiny).

Lze uzavřít, že i při existenci antivirotik zůstává očkování nadále nejdůležitější metodou prevence chřipky a jejích případných závažných komplikací. Antivirotika jsou důležitým doplňkem prevence a léčby chřipky v období epidemie a především pak pandemie (90).

Protiepidemická opatření

Dále je nutné zmínit klasická protiepidemická opatření, jejichž uplatňování spadá do prevence chřipky. Jedná se např. o dezinfekci povrchů v předškolních a školních zařízeních a také ve zdravotnických či sociálních zařízeních, čímž se snižuje možnost šíření onemocnění prostřednictvím kontaminace sekrety nemocného. Výchova o základní osobní hygieně, zejména o nevhodnosti nechráněného kašlání a kýchání, by měla být samozřejmostí (6). V Japonsku se ve větší míře využívá možnosti nosit roušku, čehož může využít nemocný i zdravý člověk. Nošení roušek lze doporučit také především zdravotníkům. Ve veřejných prostorách někdy používané germicidní zářiče mají nicméně značně omezenou účinnost, neboť první nově příchozí nemocný člověk uzavřené prostředí opět rychle kontaminuje; navíc jejich účinnost se snižuje se vzdáleností od zářiče.

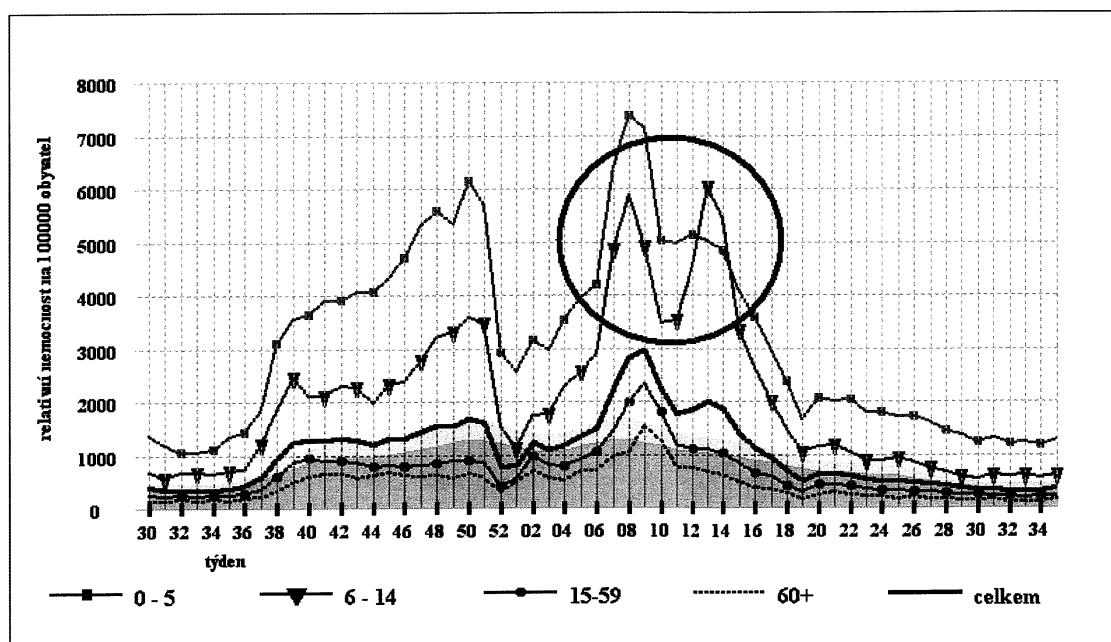
Významnou roli v prevenci šíření chřipky hraje chování nemocného, který by měl onemocnění „vyležet“ doma v posteli místo toho, aby dále šířil infekci při docházení do zaměstnání. Zejména v nemocnicích by se mělo dodržovat pravidlo izolování pacientů s identickým onemocněním na stejném pokoji, resp. nepřijímat na pokoj, kde je pacient s chřipkou, jiného pacienta bez tohoto onemocnění. Je však pochopitelné, že zejména v období chřipkových epidemií může být v nemocnicích nedostatek lůžek a uvedené pravidlo se z tohoto důvodu obtížně dodržuje.

Mezi značně diskutované téma patří zákaz návštěv v nemocnicích a zavření škol v době chřipkové epidemie. Zákazem návštěv v nemocnicích se eliminuje možnost nákazy pacientů od příbuzných, což u lidí se sníženou imunitou přinejmenším dílcí

preventivní význam má. Negativní vliv na toto opatření má bohužel fakt, že někteří nemocní zdravotničtí pracovníci nerespektují výše uvedená doporučení a šíří infekci mezi pacienty. Očkování zdravotníků proti chřipce je využíváno velmi málo a tak by tuto nepříznivou situaci možná mohl změnit jedině zájem zaměstnavatele, aby jeho zaměstnanci byli proti chřipce očkováni.

Zavírání škol v době epidemie se naproti tomu ukazuje jako relativně neefektivní opatření, mnohdy bývá navíc uplatněno příliš pozdě. Mělo by být využíváno jen pokud v důsledku nemoci dojde k vysoké absenci žáků nebo učitelů a především se zohledněním místní situace (6). Toto opatření navíc neřeší problém, kdo a jak se postará o nezletilé žáky, kteří nejsou nemocní, čímž se může zkomplikovat situace jejich rodičům. Dílčím důkazem nevhodnosti všeobecného zavření škol v době chřipkové epidemie může být graf 8, který zobrazuje nemocnost ARI podle sledovaných věkových skupin v jednom kraji České republiky, v němž bylo rozhodnutí o uzavření škol na počátku chřipkové epidemie před několika lety přijaté. Po obnovení školní docházky došlo u žáků k opětovnému propuknutí epidemie, což dokládaje druhá vlna onemocnění.

Graf 8. Možný vliv uzavření škol na výskyt akutních respiračních onemocnění v jednom z krajů ČR (v kroužku je vyznačeno období chřipkové epidemie s následným plošným uzavřením škol v kraji a poté druhá vlna epidemie mezi školáky)



2.3. Klima a počasí

Změny v atmosféře odehrávající se během krátkých časových úseků (hodin, dnů) vytvářejí počasí. Počasí lze definovat jako okamžitý stav atmosféry nad daným místem a vývoj individuálních synoptických systémů ze dne na den. Vývoj těchto systémů je dán nelineární dynamikou a není tedy předpověditeLNý na libovolně dlouhou dobu dopředu. Naproti tomu klima je obvykle definováno jako průměrné počasí. Jedná se o průměrný fyzikální stav atmosféry spolu s jeho proměnlivostí v prostoru a čase, která se pak projevuje průběhem počasí v období mnoha let (91).

Obvyklé definice klimatu se zaměřují zejména na atmosféru; oceán a zemský povrch v nich vystupuje v roli okrajové podmínky. Nicméně mechanismus, který vytváří klima na Zemi, je značně složitý systém, který vedle atmosféry zahrnuje oceány, mořský led, pevniny a jejich charakteristiky (vegetaci, ekosystémy), sněhovou pokrývku, pevninský led (ledovce Antarktidy, Grónska a horské ledovce) a hydrologii (řeky, jezera, povrchovou a podpovrchovou vodu). V současné době se proto vychází z pojmu tzv. úplného klimatického systému, který se skládá z pěti hlavních složek – atmosféry, světového oceánu, kryosféry, litosféry a biosféry.

Všechny složky úplného klimatického systému jsou heterogenní termohydrodynamické otevřené systémy. Můžeme je popsat jejich chemickým složením, termodynamickými a mechanickými stavami. Termodynamický stav je charakterizován např. teplotou, tlakem, hustotou, salinitou; mechanický stav např. rychlosťí. Úplný klimatický systém si se svým kosmickým okolím vyměňuje energii. V celém systému probíhá enormní množství procesů různých prostorových, energetických i časových měřítek. Hlavní složky úplného klimatického systému jsou tedy vystaveny neustálým výměnám hmoty a energie, a to jak mezi sebou, tak uvnitř svých vlastních subsystémů.

Klima popisujeme jak průměrnými hodnotami základních klimatických prvků a charakteristik (trvání slunečního svitu, teplota vzduchu při zemském povrchu, atmosférické srážky, sněhová pokrývka, vlhkost vzduchu, směr a rychlosť větru), tak různými mírami variability (rozptylem hodnot kolem průměrné hodnoty či kolísáním hodnot od jednoho časového okamžiku k dalšímu) (91).

Z hlediska ucelenosť meteorologických pozorování lze za nejvýznamnější pracoviště v České republice považovat Prahu – Klementinum. Pravidelná meteorologická měření na pražské klementinské hvězdárně byla zahájena v roce 1752. Nebyla to však první přístrojová měření v českých zemích, neboť éra instrumentálního pozorování u nás začala již o 40-50 let dříve. Často se však nejednalo o systematická pozorování, která navíc mnohdy nebyla publikována, a záznamy o nich se dochovaly pouze v soukromé korespondenci, v kalendářích či farních kronikách.

Rovněž samotná klementinská měření teploty a tlaku vzduchu jsou do roku 1774 značně neúplná. Dochovaly se záznamy o nejvyšších a nejnižších teplotách a tlaku vzduchu z jednotlivých měsíců roku 1752, měsíční extrémy a průměry barometrického tlaku z let 1752, 1769-1793, součty ranní a odpolední teploty a průměrné měsíční teploty v období 1771-1793 a rovněž průměrné měsíční teploty pro vybrané měsíce z období 1769-1774.

Za počátek klementinské řady se považuje rok 1775. Až do roku 1783 jsou sice v řadě mezery buď celých jednotlivých dní nebo pozorovacích termínů, ale od 1. ledna 1784 je řada z hlediska moderních kritérií souvislá a zcela bez mezer. Už v roce 1752 byly měřeny rovněž atmosférické srážky (déšť, sníh), avšak pravidelná a spolehlivá srážkoměrná měření v Klementinu začínají až 1. květnem 1804.

Měření teploty a tlaku vzduchu probíhala zpočátku dvakrát denně: ráno (při východu Slunce, v létě dvě hodiny po východu) a odpoledne kolem 15 hodin. Od roku 1800 až do konce roku 1839 byla prováděna pozorování a měření každé dvě hodiny (od východu Slunce až do 22 hodin). Základní pozorovací termíny byly v tzv. „mannheimské hodiny“ (tj. v 7, 14 a 21 hodin), které se udržely dodnes. Po roce 1840 se pozorovalo každou hodinu od 10 do 20 hodin denně, později v 19. století však s poklesem významu Klementina jako astronomické observatoře došlo i k omezení meteorologických pozorování. Na konci 19. století se pozorovalo jen třikrát denně v mezinárodně přijatých časech v 7, 14 a 21 hodin. Úpadek observatoře v Klementinu vyvrcholil na počátku 20. století, i přes nesnáze se však podařilo udržet chod meteorologických pozorování. V 30. letech 20. století začali meteorologové na celém světě věnovat zvýšenou pozornost kolísání klimatu a tak vzrostl i zájem o dlouhodobá měření.

Meteorologická pozorování pokračují v Klementinu dodnes, což je již více než 250 let. Ačkoliv klementinská měření dříve byla a rovněž i dnes jsou ovlivněna a zkreslena řadou faktorů (např. kvůli umístění měřících přístrojů v rámci areálu Klementina nebo jeho poloze v samém středu města), představují pro moderní vědu značně ojedinělý a nesmírně cenný zdroj informací o stavu počasí a podnebí v novodobé historii (92).

3. CÍL PRÁCE

Hlavním cílem práce je porovnat úmrtnost v závislosti na výskytu chřipky, čímž by bylo možné zhodnotit závažnost chřipkového onemocnění. Následně bude stanoven exces úmrtí v době chřipkové epidemie. Poslouží k tomu modelování obvyklých počtů úmrtí v jednotlivých týdnech roku při vyloučení chřipkové epidemie.

Cílem práce je dále zhodnotit, do jaké míry jsou primárním zdrojem sezonality ve výskytu akutních respiračních infekcí včetně chřipky klimatické podmínky v různých ročních obdobích. Podkladem tohoto cíle je skutečnost, že klimatické faktory jsou často považovány za jednu z determinant výskytu chřipky a ostatních akutních respiračních infekcí, neboť incidence těchto onemocnění evidentně vykazuje sezonní efekt.

Pro dílčí analýzy je třeba dále zpracovat a vyhodnotit vztahy mezi týdenní nemocností ARI ve věkové skupině 0 - 5 let, 6 - 14 let a skupině starších 15 let (15 +). Tímto je možné zjistit, v jaké souslednosti a v jak pevném vztahu probíhá výskyt ARI v jednotlivých věkových skupinách.

4. MATERIÁL A METODIKA

4.1. Data o výskytu akutních respiračních infekcí

Byla použita epidemiologická a virologická data o výskytu chřipky a ostatních akutních respiračních infekcí (ARI) ze surveillance programu, který koordinuje Centrum epidemiologie a mikrobiologie (CEM) ve Státním zdravotním ústavu (SZÚ) v Praze.

Virologickou surveillance vede Odborná skupina vzdušných nákaz virového původu CEM SZÚ. Skupina je složena z Národní referenční laboratoře (NRL) pro chřipku a NRL pro nechřipkové respirační viry. Surveillance program se skládá z týdenního hodnocení výsledků rutinního laboratorního vyšetřování párových sér a nazofaryngeálních výtěrů, které (kromě obou NRL) zajišťují spolupracující virologické laboratoře v ČR. Pro uvedené účely se běžně užívá metod fixace komplementu (CFR), přímé detekce antigenu z klinického vzorku (ELISA) a izolace původce z buněčných (tkáňových) kultur. V poslední době je taktéž používána rychlá diagnostika hlavních virových původců ARI, mezi které patří viry chřipky typu A a B, respirační syncytiaální virus, adenoviry a viry parainfluenzy (93).

Epidemiologická surveillance akutních respiračních infekcí spočívá v pravidelném týdenním hlášení počtu nemocných ARI, zasílaném prostřednictvím Krajských hygienických stanic (KHS), resp. jejich územních pracovišť do Národního registru hlášení ARI, jehož odborným garantem je SZÚ. Některá územní pracoviště KHS mají plošné pokrytí, některá zjišťují situaci jen u vybraných lékařů tzv. sentinelovým systémem.

Jedná se o týdenní údaje o nemocnosti ARI v České republice (standardizovaná nemocnost na 100 000 obyvatel). Počty nemocných jsou v současnosti zjišťovány od přibližně 1240 praktických dětských lékařů a 2230 praktických lékařů pro dospělé, jejichž sledovaná populace reprezentativně pokrývá celé území republiky a činí cca 5 milionů obyvatel (50% populace), v minulosti byl tento systém celoplošný.

Nemocnost ARI je evidována jako absolutní počet onemocnění u hlásících lékařů (s uvedením počtu obyvatel, které mají lékaři ve své péči) v jednotlivých okresech a následně přepočítávána na 100 000 obyvatel. Při přepočtu se využívá statistických metod vážení počtu onemocnění v jednotlivých skupinách na velikost příslušné populace a přímá standardizace (na evropský standard WHO), což umožňuje porovnání údajů za jednotlivé územní celky mezi sebou. Databáze Hlášení ARI je vedena v prostředí Oracle, k vlastnímu hlášení se využívá zabezpečeného prostředí internetu.

Pro potřeby epidemiologického hlášení je ARI definováno jako každé onemocnění některou z následujících klinických diagnóz (kódy onemocnění podle Mezinárodní klasifikace nemocí, 10. revize): akutní infekce horních dýchacích cest (J00, J02, J04, J05, J06) a chřipka (J10.1, J10.8, J11.1, J11.8) (tabulka 1).

Tabulka 1. Onemocnění definovaná jako ARI pro potřeby hlášení

Kód onemocnění podle MKN-10	Název onemocnění
J00	Akutní zánět nosohltanu – nasopharyngitis acuta [prosté nachlazení]
J02	Akutní zánět hltanu – pharyngitis acuta
J04	Akutní zánět hrtanu a průdušnice – laryngitis et tracheitis acuta
J05	Akutní instruktivní zánět hrtanu (krup) a epiglotis
J06	Akutní infekce horních dýchacích cest na více místech a neurčených lokalizacích
J10.1	Chřipka s jinými projevy na dýchacím ústrojí (kromě zánětu plic), chřipkový virus identifikován
J10.8	Chřipka s jinými projevy, chřipkový virus identifikován
J11.1	Chřipka s jinými projevy na dýchacím ústrojí (kromě zánětu plic), chřipkový virus neidentifikován: chřipka – influenza, chřipková akutní infekce horních dýchacích cest, chřipková laryngitis, faryngitis nebo chřipkový pohrudniční výpotek
J11.8	Chřipka s jinými projevy, chřipkový virus neidentifikován: encefalopatie způsobená chřipkou, chřipková gastroenteritis nebo myokarditis (akutní)

4.2. Data o počtech zemřelých

Denní počty úmrtí v České republice poskytl Ústav zdravotnických informací a statistiky v Praze. K dispozici je celková úmrtnost (celkem 2 197 654 úmrtí) a úmrtnost na nemoci oběhové soustavy (celkem 1 225 088 úmrtí) (definované podle Mezinárodní

klasifikace nemocí, 9. revize (MKN-9) kódy 390-459 v letech 1982-1993, resp. podle MKN-10 kódy I 00-I 99 v letech 1994-2000) za období chřipkových sezón 1982/1983 – 1999/2000. Chřipková sezóna je v souladu s European Influenza Surveillance Scheme (EISS) definována jako období od 36. kalendářního týdne do 35. kalendářního týdne následujícího roku.

4.3. Klimatické údaje

Denní údaje o teplotě vzduchu, atmosférických srážkách a vlhkosti vzduchu zjištěné meteorologickou stanicí Praha, Karlov (položená v nadmořské výšce 261 metrů, $50^{\circ} 04' 03''$ severní šířky, $14^{\circ} 25' 07''$ východní délky) poskytl Český hydrometeorologický ústav. K dispozici byla data za období od 1.1.1992 do 31.12.2000. Denní průměry teplot vzduchu za období 1961 – 1990 z meteorologické stanice Praha, Klementinum byly získány z veřejně přístupných webových stránek Českého hydrometeorologického ústavu (www.chmi.cz).

4.4. Statistické zpracování

Ke zpracování výše uvedených dat za období 36. kalendářního týdne roku 1982 – 35. kalendářního týdne roku 2000 byl použit statistický software SPSS verze 12.0 (Chicago, IL, USA) a R verze 2.1.1 s programem SURVIVAL (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Pro dílčí zpracování vztahu nemocností ARI v jednotlivých věkových skupinách byl použit program Stata v. 5, Stata Corporation, Texas, USA. V korelací s různými časovými odstupy (0, 1, 2 týdny) byla použita data z období od ledna 1985 do října 1999, čímž byla testována eventuální vzájemná následnost mezi počty onemocnění v různých věkových skupinách. Statistické testy byly prováděny na hladině významnosti 5%, případně je pro upřesnění uváděna p hodnota.

Analýza byla založena na předpokladu, že počty zemřelých v době mimo chřipkovou epidemii mají přibližně Poissonovo rozložení s časovým trendem a sezonní komponentou. Cílem vytvořeného modelu bylo vypočítat počet úmrtí v závislosti na týdnu bez ohledu na chřipkovou epidemii (tj. vypočítat sezónní podíl). Data o úmrtnosti (týdenní počty zemřelých) považujeme za zleva cenzurovaná, neboť chřipková epidemie může počet úmrtí pouze zvýšit; sezónní frakce je v období chřipkové epidemie zamaskována úmrtími, která lze přičíst na vrub epidemie a nikoliv na vrub

sezónního výskytu. Týdenní počty úmrtí (**DECEASED**) závisí na sezónnosti – číslu týdne (**WEEK**) a velikosti věkové skupiny populace (**A0** věk méně než 1 rok, **A1** 1-4 roky, **A2** 5-14 let, **A3** 15-24 let, **A4** 25-59 let, **A5** 60-69 let, **A6** 70-79 let and **A7** 80+ let). S proměnnou **WEEK** se zachází jako s kategoriální proměnnou. Vzhledem k tomu, že pro rozložení úmrtí předpokládáme Poissonovo rozložení, je v modelu použita approximace pomocí Gaussova rozložení logaritmu proměnné **DECEASED**. Pro označení výskytu epidemie v konkrétním týdnu je použita indikátorová veličina **EPIDEMIC**.

Model byl vytvořen v statistickém programu R-SURVIVAL s použitím příkazu:

```
Survreg(  
  Surv(log(DECEASED) , EPIDEMIC, type="left")~as.factor(WEEK) +  
  A0+A1+A2+A3+A4+A5+A6+A7,  
  dist="gaussian")
```

Pro účely grafického zobrazení byla data adjustována s použitím počtu obyvatel ve věkových skupinách (**A0**, ... , **A7**) pro rok 1991 (střed studovaného období) za účelem zohlednění změn ve věkové struktuře obyvatelstva. Adjustace byla provedena pomocí vypočítaných koeficientů vytvořeného modelu. Adjustovaného počtu úmrtí bylo dosaženo odstraněním rozdílu mezi příslušným rokem a rokem 1991 pomocí velikosti věkových skupin a výpočtu v modelu. Pro analýzu byl použit obecný lineární model pro závislost logaritmu z leva cenzorované úmrtnosti na čase (počet týdnů od začátku sledování, tj. od začátku roku 1982) a týdnu v roce jako kategoriálním faktoru. Pro názornou interpretaci byly získané odhady zpět odlogaritmovány. Vypočtený týdenní odhad byl vyhlazen pomocí jádrového odhadu s Gaussovským jádrem ($N(0,1)$).

Výše uvedené statistické metody byly využity i pro analýzu vlivu klimatických faktorů na výskyt ARI. K analýze bylo na straně ARI použito relativních počtů nemocných (týdenní nemocnost na 100 000 obyvatel) a na straně klimatických faktorů denní údaje o srážkách, vlhkosti a teplotě (viz příslušná kapitola). Vzhledem k tomu, že rozložení relativních počtů ARI je blízké lognormálnímu rozložení (tj. není zdaleka normální, a to ani v neepidemickém období), byla pro analýzu vlivu klimatu použita logaritmická transformace s tím, že výsledné odhady jsou následně transformovány zpět

na běžnou škálu. Jedním z cílů dílcí analýzy bylo prověření hypotézy, zda může být výskyt ARI ovlivněn klimatickými faktory (především teplotou) až s určitým časovým posunem. Z tohoto důvodu byly pro každý týden ARI vypočteny průměrné týdenní teploty posunuté o 0, 1, ..., 7 dní a ty pak byly zahrnuty do testovaných modelů.

K vlastní analýze vlivu klimatických faktorů bylo použito několik různých postupů. Nejjednodušším přístupem bylo použití neparametrického Spearmanova korelačního koeficientu pro analýzu vztahu ARI a vybraného faktoru. Pro složitější analýzu byl použit lineární model pro logaritmy ARI v době mimo epidemii. Do modelu byly zahrnovány jak klimatické faktory či roční trend, tak i sezonalita (ve formě týdne). Ve snaze využít maximum informace, tedy i hodnot ARI v době epidemie, bylo opět (stejně jako v případě analýzy úmrtnosti) použito metod pro zleva cenzurovaná data.

5. VÝSLEDKY

5.1. Výskyt a vztah nemocností ARI v jednotlivých věkových skupinách

Pravidelná cyklická týdenní relativní nemocnost ARI ve věkových skupinách 0-5 let, 6-14 let a 15+ let v České republice za období leden 1985 - říjen 1999 je znázorněna v grafu 9. Nejvyšší nemocnost je ve věkové skupině 0 až 5 let, nejnižší ve skupině dospělých.

Statistické zpracování vztahu nemocnosti jednotlivých věkových skupin je shrnuto v tabulce 2. Je uvedena korelace mezi relativní nemocností věkové skupiny 0-5 let, 6-14 let, 15+ let a těmito proměnnými posunutými vůči sobě o 0, 1 a 2 týdny. Nejtěsnější závislost mezi nemocností jednotlivých věkových skupin byla zjištěna u dat ze stejného týdne. Z toho lze usuzovat, že proces šíření nákazy je poměrně rychlý. V případě posunu řady dat jakékoli věkové skupiny o jeden nebo dva týdny již závislost s další věkovou skupinou není tak těsná.

Tabulka 2. Korelace mezi nemocností v jednotlivých věkových skupinách posunutých vůči sobě o 0, 1 a 2 týdny

	v05	V05lag1	v05lag2	v614	v614lag1	v614lag2	v15+	v15lag1	v15lag2
v05									
v05lag1	0,9220								
v05lag2	0,7962	0,9220							
v614	0,9011	0,8150	0,6803						
v614lag1	0,8462	0,9011	0,8150	0,9179					
v614lag2	0,7188	0,8462	0,9011	0,7672	0,9179				
v15+	0,9027	0,8479	0,7383	0,8998	0,8572	0,7393			
v15lag1	0,8301	0,9027	0,8479	0,8102	0,8998	0,8572	0,9269		
v15lag2	0,7067	0,8301	0,9027	0,6753	0,8102	0,8998	0,7930	0,9269	

Poznámka: Tučně označeny nejsilnější korelace

v05 = nemocnost ve věkové skupině 0-5 let

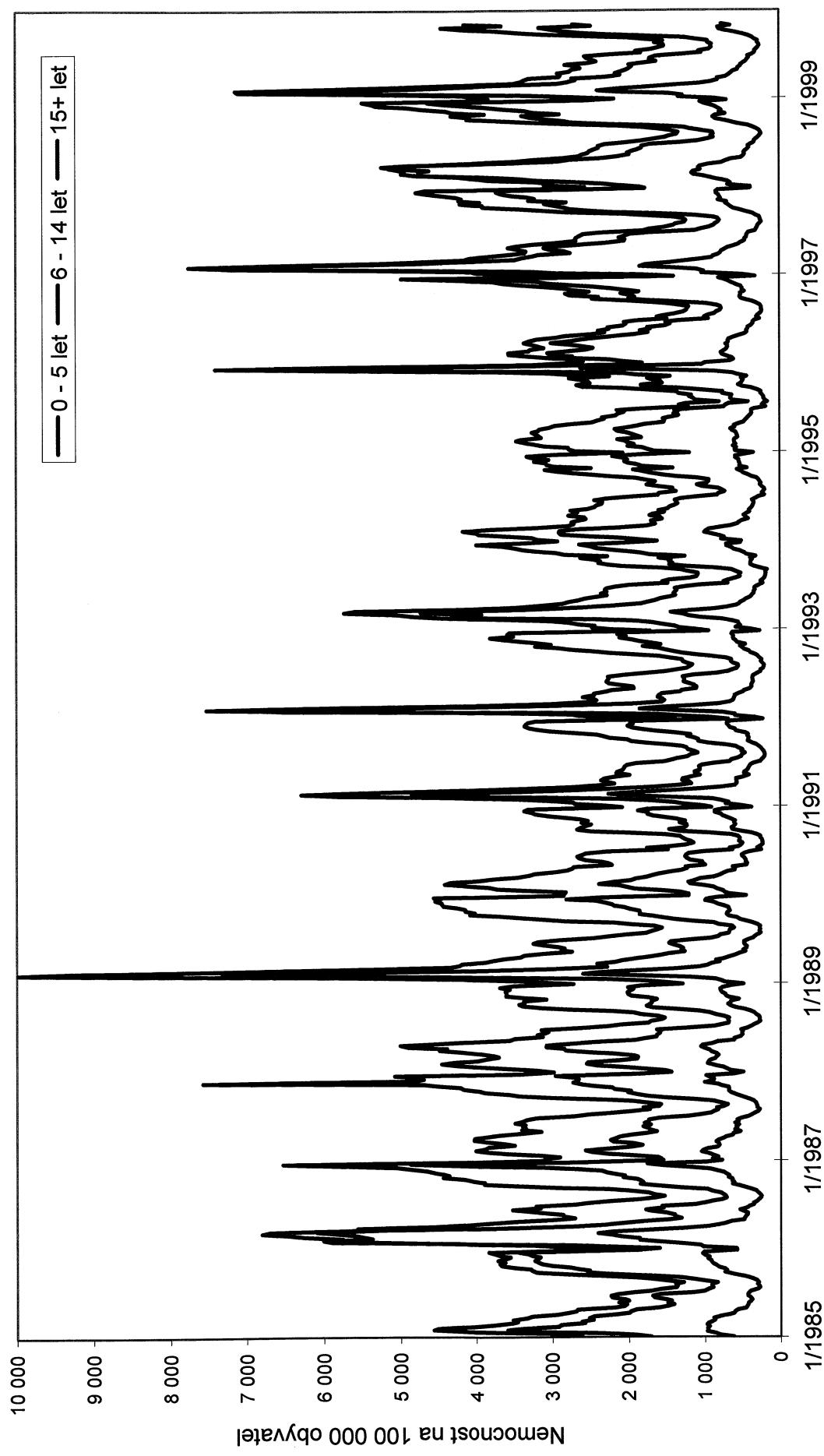
v614 = nemocnost ve věkové skupině 6-14 let

v15+ = nemocnost ve věkové skupině 15+ let

* lag1 = posun příslušné řady o 1 týden

* lag2 = posun příslušné řady o 2 týdny

Graf 9. Týdenní relativní nemocnost ARI ve sledovaných věkových skupinách v ČR, 1985-1999

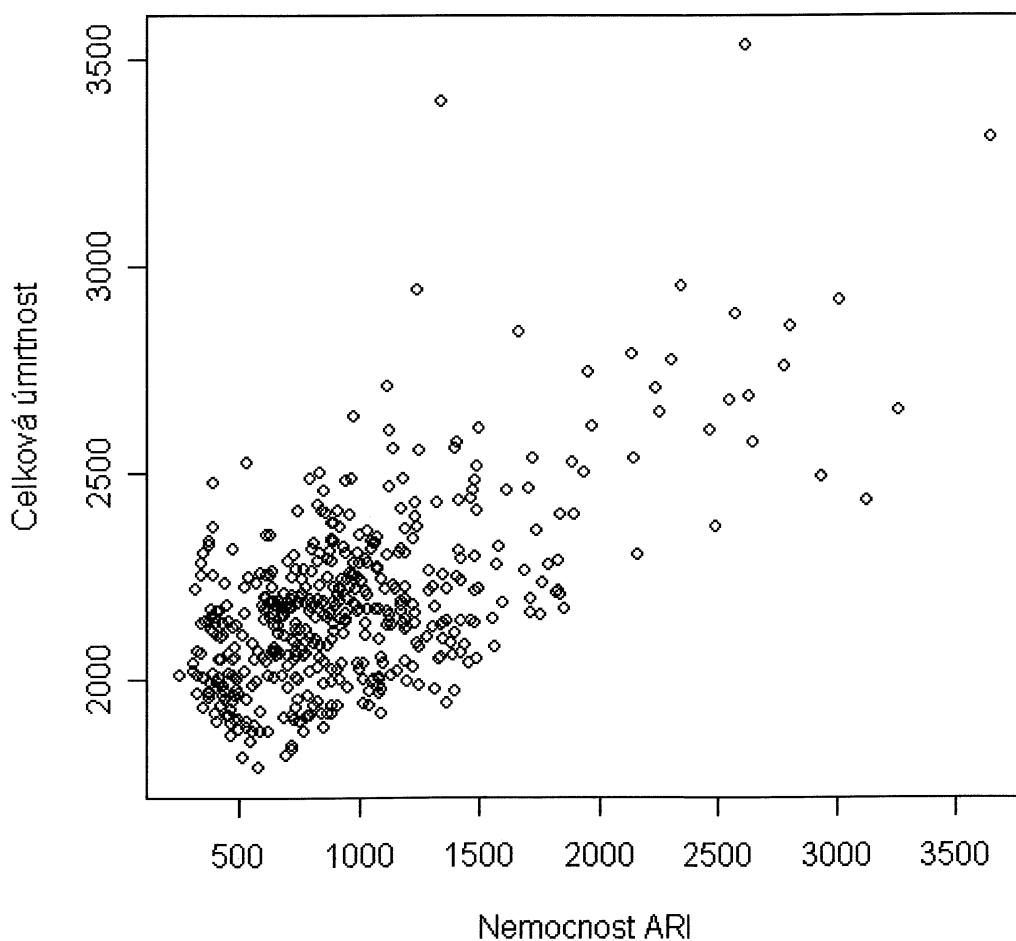


5.2. Vztah úmrtnosti a nemocnosti ARI

Týdenní nemocnost ARI a týdenní celková úmrtnost za období chřipkových sezón 1982/1983 - 1999/2000 je zobrazena v grafu 10. Z grafu vyplývá, že maxima úmrtí se vyskytují téměř simultánně s maximy nemocnosti ARI. Průměrné zpoždění mezi maximem ARI a maximem úmrtí je 1,14 týdne.

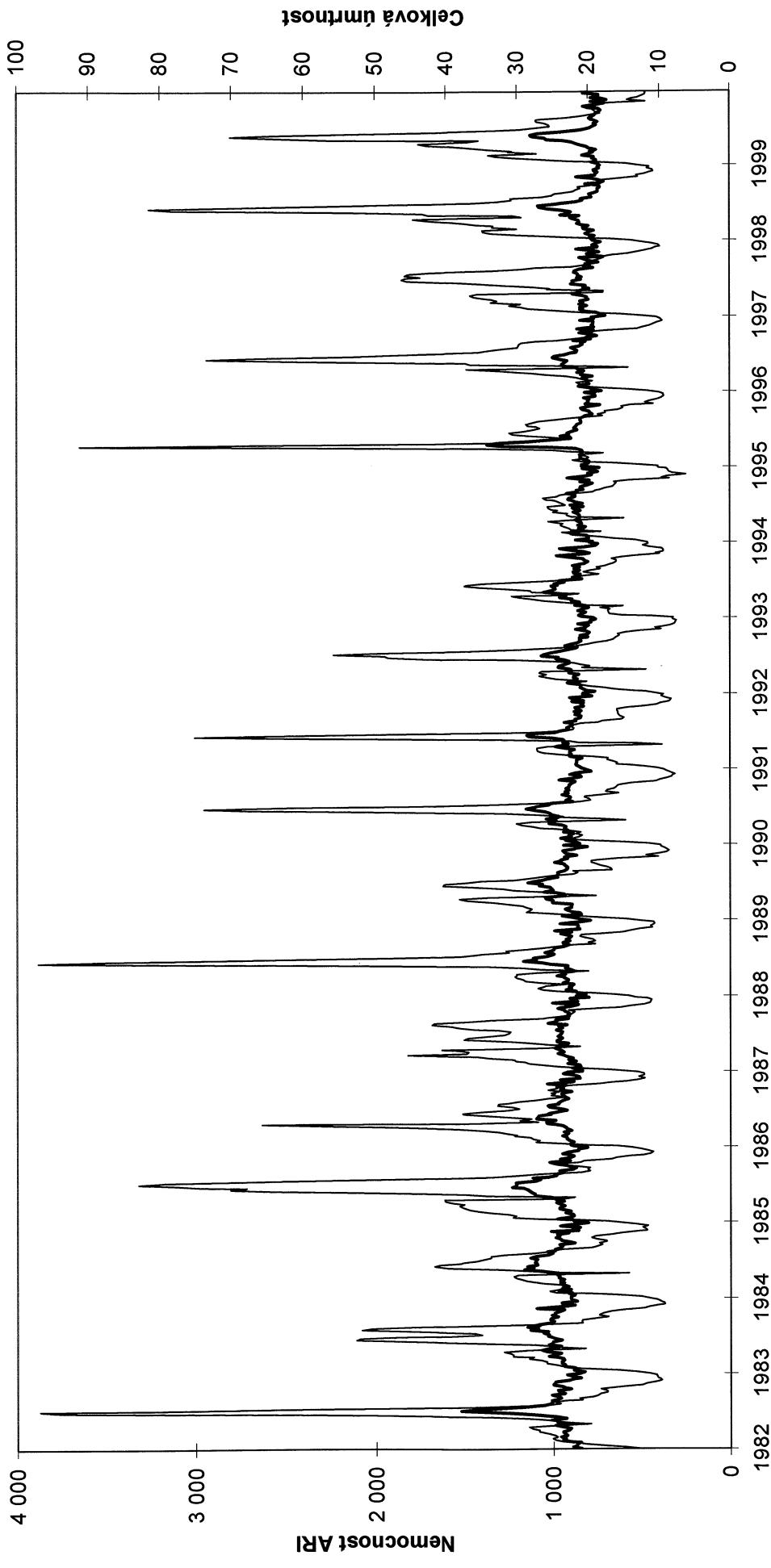
Pomocí Spearmanova korelačního koeficientu byla nalezena statisticky významná závislost mezi týdenní celkovou nemocností ARI a týdenní úmrtností. Mezi těmito řadami dat ($N = 468$) byla nalezena korelace $\rho = 0,469$ ($p < 0,001$). Je tím prokázáno, že vyšší výskyt ARI vede ke zvýšení počtu úmrtí. Závislost týdenní úmrtnosti na nemocnosti ARI je zobrazena na obrázku 5.

Obr. 5. Bodový graf závislosti týdenní úmrtnosti na nemocnosti ARI



Graf 10. Akutní respirační infekce (tenká červená čára, levá osa) a celková úmrtnost (silná modrá čára, pravá osa) na 100 000 obyvatel, po týdnech, sezóna 1982/1983 – 1999/2000

Pozn.: Rok označuje 1. týden příslušné chřipkové sezóny (týden 36)



Dále byla spočítána závislost mezi nemocností ARI a úmrtími pro neepidemické týdny ($N = 385$). Byla nalezena korelace $\rho = 0,293$. Tento korelační koeficient je sice nižší než ve výše uvedeném případě, korelace je přesto stále statisticky významná ($p < 0,001$). Stejný postup byl použit i pro výpočet závislosti mezi nemocností ARI a úmrtními v epidemických týdnech ($N = 83$). Korelace byla v tomto případě nejvyšší, $\rho = 0,669$ ($p < 0,001$).

Obdobné korelace byly nalezeny při porovnání závislosti nemocnosti ARI a úmrtí na nemoci oběhové soustavy. Výsledky pro tuto skupinu úmrtí a pro výše uvedená úmrtí na všechny příčiny smrti jsou přehledně uvedeny v tabulce 3.

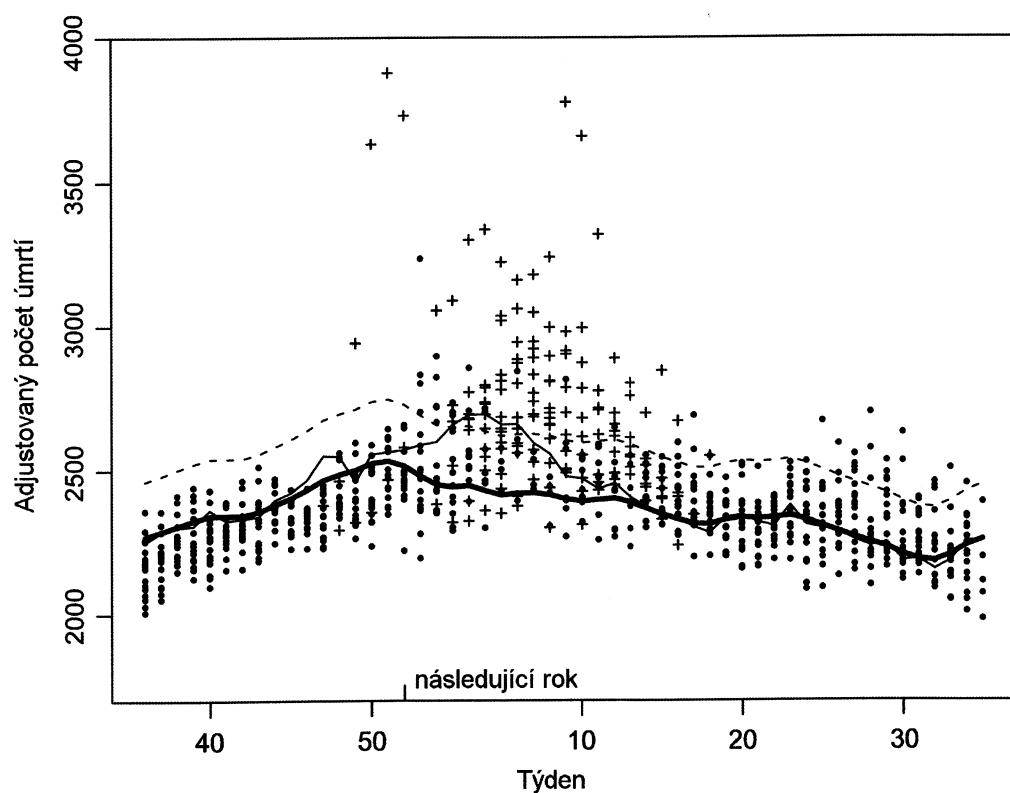
Tabulka 3. Korelace mezi týdenní celkovou nemocností ARI a úmrtností

Spearmanův korelační koeficient ρ	Úmrtí na všechny příčiny smrti	Úmrtí na nemoci oběhové soustavy
Období chřipkové epidemie ($N = 83$)	$\rho = 0,669$ ($p < 0,001$)	$\rho = 0,682$ ($p < 0,001$)
Období mimo chřipkovou epidemii ($N = 385$)	$\rho = 0,293$ ($p < 0,001$)	$\rho = 0,297$ ($p < 0,001$)
Celé období ($N = 468$)	$\rho = 0,469$ ($p < 0,001$)	$\rho = 0,481$ ($p < 0,001$)

5.3. Stanovení excesu úmrtí v době chřipkové epidemie

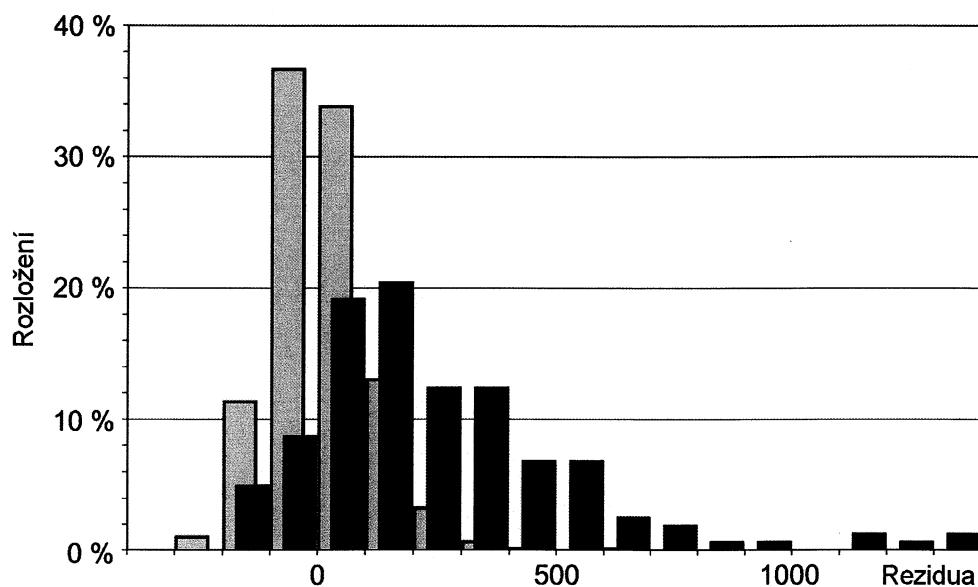
Na obrázku 6 jsou zobrazeny adjustované týdenní úmrtnosti za období 1982/1983 – 1999/2000 a vypočítaný model. Silná čára představuje vypočtený model. Slabá čára představuje model, který neuvažuje výskyt epidemie. Slabá přerušovaná čára představuje vyhlazenou jednostrannou 95%-ní toleranční mez. Křížky představují pozorování v době epidemie a tečky ostatní pozorování. V době epidemie (162 týdnů) bylo nad toutomezí 47,5% pozorování, mimo epidemii (777 týdnů) pouze 4,6%. Medián odchylek mezi vypočítaným a skutečným počtem úmrtí je v případě neepidemických týdnů zanedbatelný, neboť činí 0,8 (95% interval spolehlivosti (CI) = (-0,4; 12,2)). Naproti tomu pro epidemické týdny je uvedený medián roven 188,2 (95% CI = (178,6; 283,6)).

Obr. 6. Adjustované týdenní úmrtnosti a použitý model



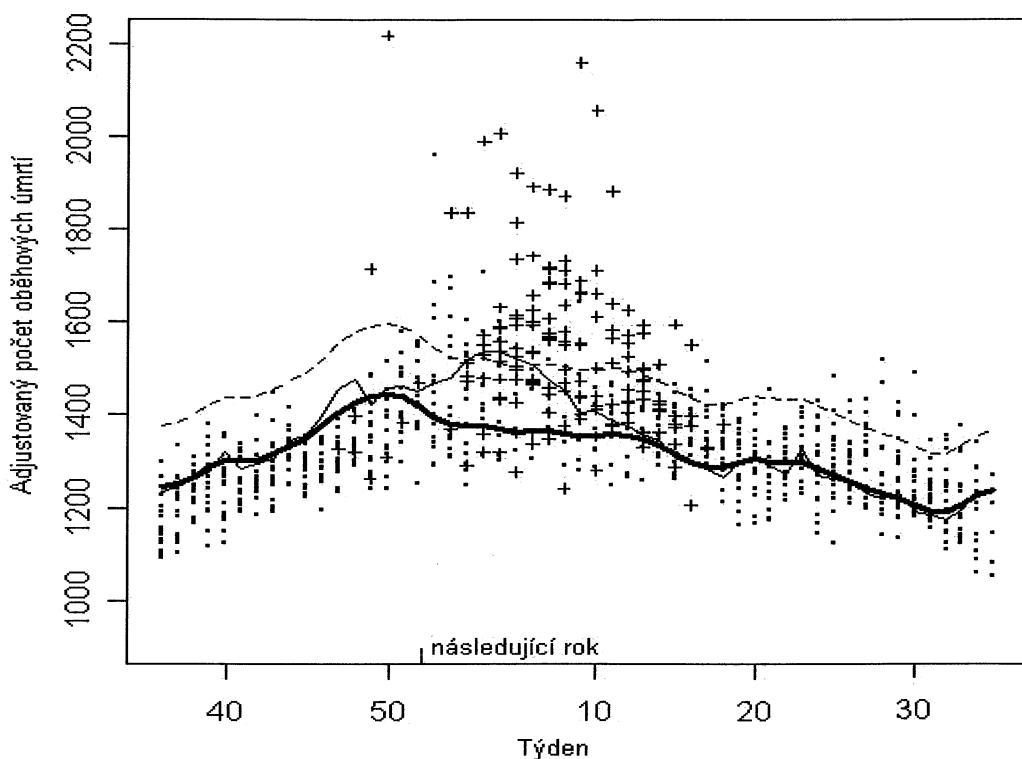
Obrázek 7 zobrazuje rezidua dat pro neepidemické a epidemické týdny. Rezidua dat v neepidemických týdnech (která popisují kvalitu modelu) nejsou statisticky významně odlišná od nuly, zatímco rezidua v epidemických týdnech (která popisují exces úmrtí v době chřipkové epidemie) jsou statisticky významně odlišná od nuly ($p<0.001$).

Obr. 7. Histogram reziduí dat mezi pozorovanými a modelovanými počty úmrtí v průběhu chřipkové epidemie (tmavé sloupce) a v neepidemických týdnech (světlé sloupce)



Podobné výsledky byly nalezeny u úmrtí na nemoci oběhové soustavy, které jsou zodpovědné za 55,7% všech úmrtí ve sledovaném období (obrázek 8). Medián odchylek mezi vypočítaným a skutečným počtem úmrtí na nemoci oběhové soustavy je v případě neepidemických týdnů opět zanedbatelný – činí 2,4 (95% CI = (-0,4; 10,6)). V epidemických týdnech je medián roven 126,0 (95% CI = (120,4; 196,4)), rozdíl je statisticky významný, $p<0.001$.

Obr. 8. Adjustované týdenní úmrtnosti na nemoci oběhové soustavy a použitý model



Tabulka 4 zobrazuje základní charakteristiky jednotlivých chřipkových sezón v České republice v období 1982 – 2000. Kromě toho je v ní uveden roční exces úmrtí v důsledku chřipky. Uvedené údaje znázorňují rozdíl mezi pozorovaným počtem úmrtí a odpovídajícím počtem úmrtí v nepřítomnosti chřipkové epidemie. Pro celkovou úmrtnost (všechny příčiny smrti) je průměrný roční odhad úmrtí v souvislosti s chřipkou 2661 (25,99 na 100 000 obyvatel), což představuje 2,17% všech úmrtí. U úmrtí na nemoci oběhové soustavy průměrný roční odhad úmrtí činí 1752 úmrtí (17,11 na 100 000 obyvatel), tj. 2,57% oběhových úmrtí. Výsledky pro jednotlivé roky se pochopitelně výrazně odlišují v závislosti na rozsahu chřipkové epidemie.

Pro každou epidemickou sezónu je v tabulce 4 dále uveden exces úmrtí pouze v době chřipkové epidemie, který přesáhl 95%-ní toleranční mez modelu. Tyto údaje představují počty úmrtí těsně svázané s obdobím chřipkové epidemie, tj. navýšení úmrtnosti nad 95. percentil neepidemického výskytu v příslušném týdnu. Průměrný exces úmrtí pouze v období chřipkové epidemie činí 1125 osob každý rok, což je 0.92% všech úmrtí (rozmezí 0 - 4259).

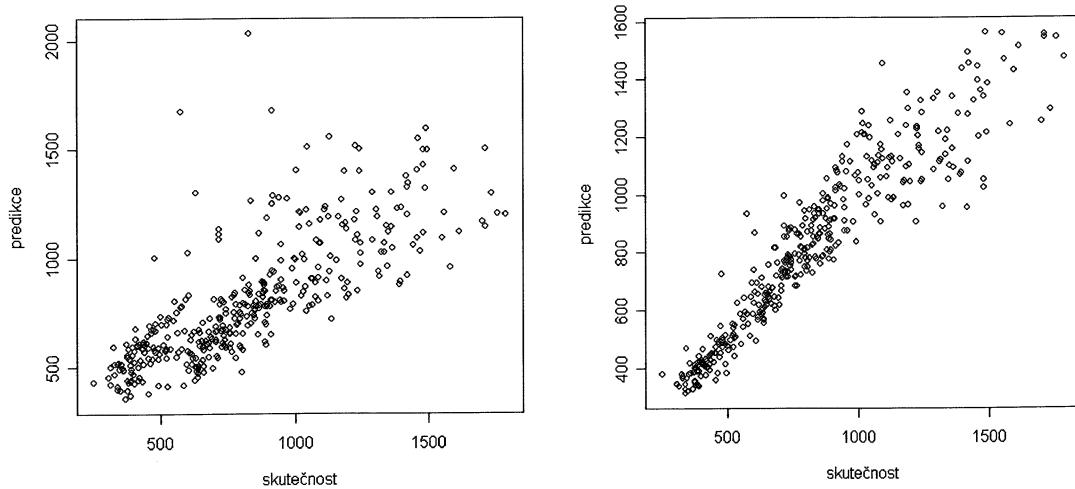
Tabulka 4. Odhad ročního počtu úmrtí, který je možné přisoudit chřipce v ČR, 1982 – 2000 (podle Kyncl et al. Eur J Epidemiol, 2005)

5.4. Analýza vlivu klimatických faktorů na výskyt ARI

Byla sledována data výskytu ARI v závislosti na srážkách, vlhkosti vzduchu a teplotě s adjustací na obyvatelstvo (tj. s vyloučením vlivu změn velikosti populace) a adjustací na rok (vzhledem k dlouhodobému trendu nemocnosti). Vzhledem ke specifickosti chřipkového onemocnění byly použity dva různé přístupy.

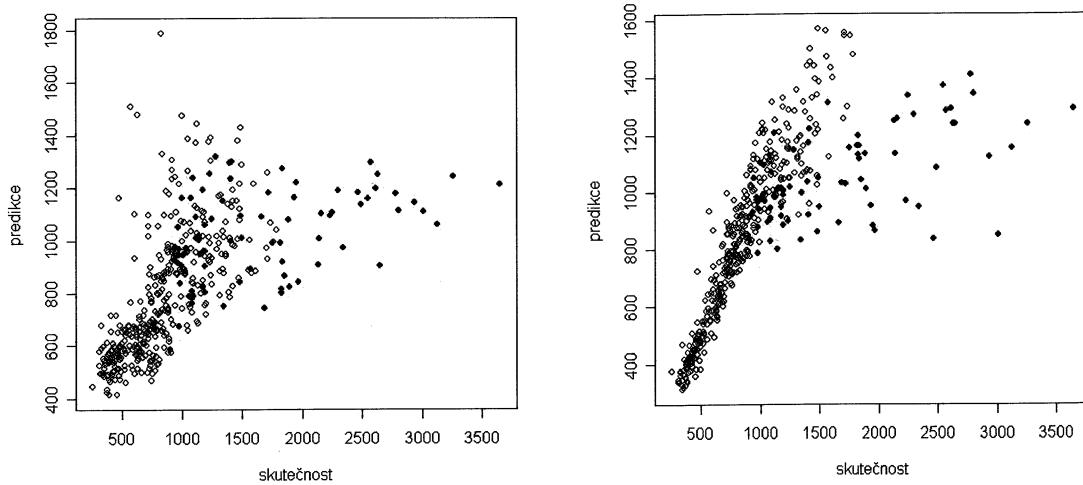
Pokud jsou z výpočtu data o chřipkové epidemii zcela vyloučena, lze nalézt silnou závislost výskytu ARI na teplotě ($p < 0,0001$) a mírný náznak závislosti ARI na srážkách ($p = 0,058$) (obr. 9). Je nutné si uvědomit, že uvedená závislost je nepochybně významně ovlivněna sezónním kolísáním počasí. I v případě, že vyloučíme rozdíly nemocnosti v závislosti na roční cyklicitě (sezonalitě), je možné prokázat statisticky silnou závislost ARI jen na teplotě ($p = 0,0095$) (obr. 10).

Obr. 9 a 10. Predikce neepidemického výskytu ARI v závislosti na srážkách, vlhkosti a teplotě bez zohlednění týdne (vlevo), resp. se zohledněním týdne (vpravo) v porovnání se skutečností (Data o chřipkové epidemii jsou vyloučena z výpočtu)



Pokud je pro výpočet využito metod cenzorování (tj. logický předpoklad, že v době epidemie se je výskyt ARI vyšší než by normálně byl), tak po odstranění závislosti na roční cyklicitě je závislost výskytu ARI na srážkách i vlhkosti již nevýznamná. Závislost ARI na teplotě je však stále významná ($p = 0,0038$) (obr. 11 a 12).

Obr. 11 a 12. Predikce výskytu ARI v závislosti na srážkách, vlhkosti a teplotě bez zohlednění týdne (vlevo), resp. se zohledněním týdne (vpravo) v porovnání se skutečností (Data o chřípkové epidemii - červené body - jsou v modelu považována za cenzorovaná)



V případě nezohlednění týdne, ve kterém je výpočet prováděn, je možné modelovat nemocnost ARI v závislosti na teplotě, vlhkosti a srážkách (obr. 11) podle vzorce:

$$\begin{aligned} \text{ARI (rel./100 000)} \cong & \text{koef}_{\text{týden}} \times \\ & \times (\text{koef}_{\text{srážky}})^{\text{aktuální srážky (mm)}} \times \\ & \times (\text{koef}_{\text{vlhkost}})^{\text{aktuální vlhkost (%)}} \times \\ & \times (\text{koef}_{\text{teplota}})^{\text{aktuální teplota (°C)}} \end{aligned}$$

Hodnoty koeficientů pro výpočet jsou:

	průměr	95% CI
koef _{týden}	860,76	(635,35; 1166,14)
koef _{srážky}	0,9968	(0,9940; 0,9996)
koef _{vlhkost}	1,0039	(1,0001; 1,0078)
koef _{teplota}	0,9672	(0,9622; 0,9723)

V případě, že chceme zohlednit individualitu konkrétního týdne, resp. roku, ve kterém jsou klimatické proměnné zjišťovány (obr. 12), při výpočtu nemocnosti ARI je možné vycházet z následujícího vzorce s tím, že pro konkrétní týden použijeme příslušný koeficient (viz tabulka 5):

$$\begin{aligned} \text{ARI (rel./100 000)} &\equiv \text{koef}_{\text{týden}} \times \\ &\quad \times (\text{koef}_{\text{srážky}})^{\text{aktuální srážky (mm)}} \times \\ &\quad \times (\text{koef}_{\text{vlhkost}})^{\text{aktuální vlhkost (%)}} \times \\ &\quad \times (\text{koef}_{\text{teplota}})^{\text{aktuální teplota (°C)}} \times \\ &\quad \times (\text{koef}_{\text{rok}})^{\text{číslo roku - 1995}} \end{aligned}$$

Tabulka 5. Hodnota koeficientu týdne pro výpočet odhadu nemocnosti ARI v závislosti na klimatických proměnných

týden	průměr	95% CI	týden	průměr	95% CI
1	1098,49	(885,42; 1362,84)	28	544,54	(442,81; 669,63)
2	1211,07	(996,03; 1472,54)	29	536,51	(434,53; 662,42)
3	1227,54	(999,75; 1507,23)	30	472,65	(384,51; 581,00)
4	1197,52	(983,04; 1458,79)	31	472,31	(382,23; 583,61)
5	1110,63	(893,72; 1380,19)	32	461,15	(374,36; 568,06)
6	1139,51	(902,52; 1438,74)	33	474,66	(385,23; 584,83)
7	1291,42	(1037,22; 1607,93)	34	494,83	(401,44; 609,93)
8	1162,50	(931,21; 1451,22)	35	504,23	(409,36; 621,09)
9	1074,16	(859,77; 1342,01)	36	575,20	(464,95; 711,58)
10	1200,99	(988,24; 1459,53)	37	676,77	(547,32; 836,84)
11	1134,64	(936,48; 1374,74)	38	819,55	(663,18; 1012,80)
12	1114,58	(919,92; 1350,42)	39	965,11	(781,26; 1192,24)
13	1111,12	(917,02; 1346,29)	40	1037,78	(835,63; 1288,82)
14	1065,46	(875,52; 1296,61)	41	1112,97	(893,81; 1385,86)
15	1025,89	(848,73; 1240,04)	42	1137,99	(921,26; 1405,70)
16	1022,42	(848,80; 1231,56)	43	1116,50	(913,80; 1364,15)
17	972,45	(805,85; 1173,49)	44	1073,98	(875,91; 1316,83)
18	906,84	(743,72; 1105,75)	45	1149,61	(939,78; 1406,29)
19	866,68	(719,12; 1044,53)	46	1218,88	(989,49; 1501,46)
20	869,68	(716,37; 1055,80)	47	1245,98	(1024,26; 1515,69)
21	851,87	(702,96; 1032,32)	48	1353,36	(1100,50; 1664,31)
22	833,75	(685,82; 1013,59)	49	1411,02	(1151,47; 1729,07)
23	818,40	(668,74; 1001,56)	50	1479,56	(1211,73; 1806,59)
24	812,18	(661,64; 996,97)	51	1477,99	(1215,81; 1796,71)
25	804,74	(656,10; 987,07)	52	951,37	(781,81; 1157,71)
26	744,17	(607,87; 911,02)	53	901,01	(740,20; 1096,77)
27	597,51	(488,29; 731,16)			

Hodnoty zbývajících koeficientů pro výpočet jsou:

	průměr	95% CI
koef _{srážky}	1,0005	(0,9990; 1,0019)
koef _{vlhkost}	0,9984	(0,9961; 1,0006)
koef _{teplota}	0,9930	(0,9884; 0,9977)
koef _{rok}	1,0488	(1,0440; 1,0537)

K právě uvedenému výpočtu je nutné doplnit, že v modelu byl použit lineární trend, který je v analýze tohoto typu běžně používán pro modelování sledovaného období, ale není přípustný pro jakoukoliv extrapolaci (tj. pro výpočet odhadu nemocnosti v jiných letech než je analyzované období), neboť kvalita odhadu se výrazně zhoršuje při vzdalování od sledovaného období.

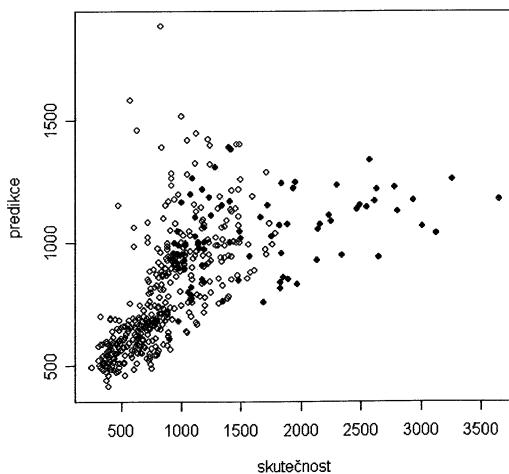
Vzhledem k výše uvedeným výsledkům je dále uvedeno stanovení nemocnost ARI pouze v závislosti na teplotě (obr. 13), kdy se při nezohlednění týdne vychází ze vzorce:

$$\text{ARI (rel./100 000)} \cong \text{koef}_{\text{týden}} \times (\text{koef}_{\text{teplota}})^{\text{aktuální teplota } (^{\circ}\text{C})}$$

Hodnoty koeficientů pro výpočet jsou:

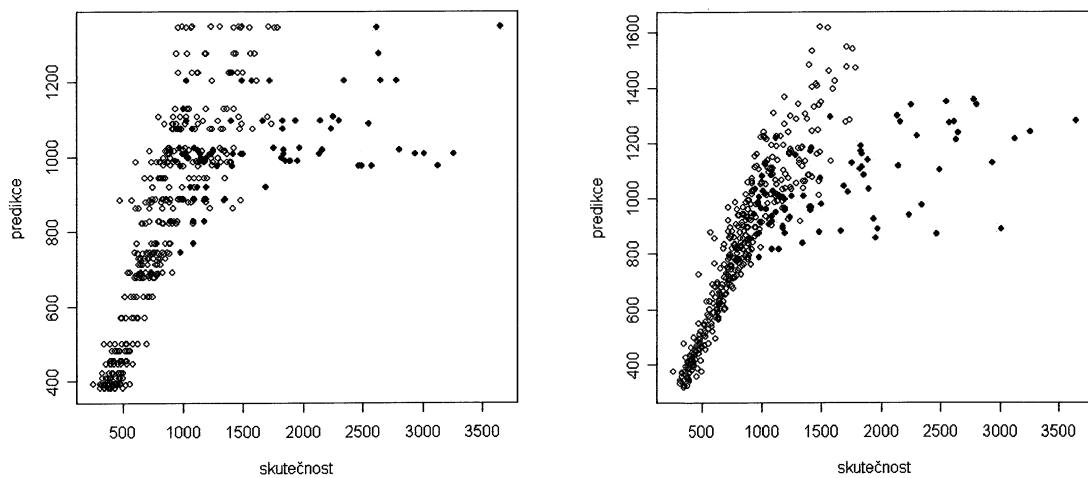
	průměr	95% CI
koef _{týden}	1156,0	(1102,5; 1212,1)
koef _{teplota}	0,9628	(0,9595; 0,9662)

Obr. 13. Predikce výskytu ARI v závislosti na teplotě bez zohlednění týdne výskytu a porovnání se skutečností (Data o chřipkové epidemii - červené body - jsou v modelu považována za cenzorovaná.)



Obráceným přístupem je modelování závislosti nemocnosti ARI pouze na týdnu onemocnění (tj. bez přímého zohlednění klimatických faktorů). Jak dokumentují obrázky 14 a 15, uvedený postup poskytuje také kvalitní odhad nemocnosti. Je to tím, že týden onemocnění v sobě již zahrnuje informaci o klimatických faktorech (především teplotě), neboť teplota má významně sezonní závislost. Modelování závislosti nemocnosti ARI pouze na týdnu onemocnění tudíž potvrzuje vliv sezóny. Rozdíl mezi obrázky 14 a 15 prokazuje, že výskyt onemocnění v časové řadě vykazuje trend. Tím je dokladována správnost postupu, který při výpočtu provádí adjustaci na rok, čímž je zohledněn trend v jednotlivých letech.

Obr. 14 a 15. Predikce výskytu ARI v závislosti na týdnu onemocnění bez zohlednění roku onemocnění (vlevo), resp. se zohledněním roku onemocnění (vpravo) v porovnání se skutečností (Data o chřipkové epidemii - červené body - jsou v modelu považována za cenzorovaná.)



Při návazné podrobnější analýze závislosti výskytu ARI na teplotě byla sledována korelace nemocnosti a teploty posunuté mezi sebou o 0 až 7 dní, a to pro epidemické i neepidemické týdny (tabulka 6). V případě neepidemického období bylo zjištěno, že nejsilnější závislost nemocnosti ARI na teplotě je při posunu o 1 až 2 dny. Znamená to tedy, že zvýšení nemocnosti ARI obvykle nastává s odstupem 1 až 2 dny po snížení teploty vzduchu. V případě epidemického období je nejsilnější závislost při posunu o 4 dny. Je třeba dodat, že údaje o korelacích v tabulce jsou bez zohlednění týdne, tedy ovlivněné sezónností. Rozdíly v korelacích pro různé posunutí jsou však nevýrazné a proto je stanovení posunutí velmi nepřesné.

Dále byl zjišťován vliv teploty s posunem o 0 až 7 dní na nemocnost ARI při zohlednění ostatních faktorů, tj. srážek, vlhkosti, roku a týdne, vždy s využitím metod cenzorování, resp. vyloučení dat o epidemii (tabulka 7). I v tomto případě jsou výsledky podobné; při zohlednění ostatních sledovaných parametrů byla nejtěsnější závislost nemocnosti ARI na teplotě zjištěna při posunu o 1 den. V tomto případě byl eliminován vliv sezóny, což vede k tomu, že vliv teploty je nižší a hodnoty p jsou tudíž o něco méně významné. Nicméně i zde je odhad posunutí zatížen velkou chybou (způsobenou mnoha faktory).

Tabulka 6. Korelace nemocnosti ARI a teploty posunuté mezi sebou o 0 až 7 dní pro neepidemické a pro epidemické týdny (p ve všech případech < 0,001)

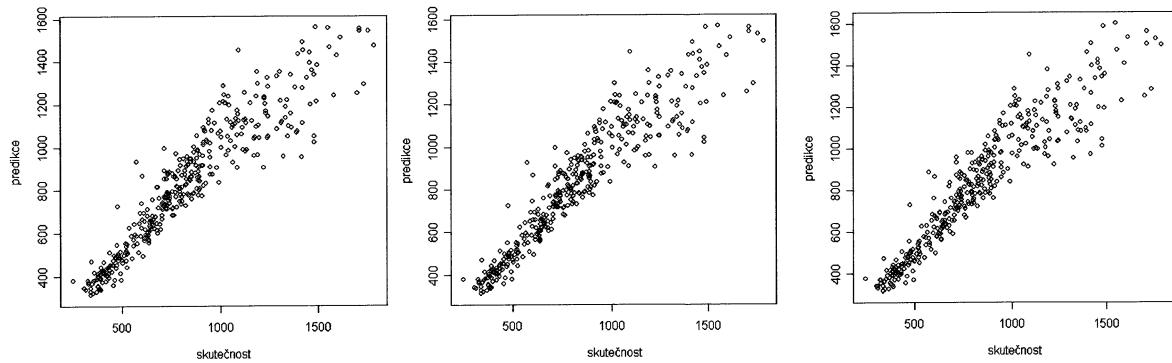
Posun nemocnosti ARI vůči teplotě	Neepidemické týdny	Epidemické týdny
0 dnů	$p = 0,789$	$p = 0,428$
1 den	$p = 0,791$	$p = 0,450$
2 dny	$p = 0,791$	$p = 0,477$
3 dny	$p = 0,789$	$p = 0,490$
4 dny	$p = 0,789$	$p = 0,504$
5 dnů	$p = 0,788$	$p = 0,493$
6 dnů	$p = 0,784$	$p = 0,488$
7 dnů	$p = 0,779$	$p = 0,481$

Tabulka 7. Test vlivu teploty na ARI při zohlednění srážek, vlhkosti, roku a týdne

Posun nemocnosti ARI vůči teplotě	Data o chřípkové epidemii vyloučena	Data o chřípkové epidemii cenzorována
0 dnů	$p = 0,010$	$p = 0,004$
1 den	$p = 0,009$	$p = 0,003$
2 dny	$p = 0,013$	$p = 0,003$
3 dny	$p = 0,032$	$p = 0,009$
4 dny	$p = 0,059$	$p = 0,020$
5 dnů	$p = 0,092$	$p = 0,036$
6 dnů	$p = 0,114$	$p = 0,053$
7 dnů	$p = 0,164$	$p = 0,097$

Použití případného posunu teploty ve vzorci pro dlouhodobou predikci nemocnosti v závislosti na klimatických faktorem však nemá velký význam vzhledem k vlivu ostatních proměnných. Obrázky 16 až 18 zobrazují pro ilustraci modelování nemocnosti při posunu teploty o 0 dní (vlevo), 1 den (uprostřed) a 7 dní (vpravo) oproti nemocnosti, které jsou téměř identické. V předchozích odstavcích uvedené zvýšení nemocnosti s odstupem 1 až 2 dny po snížení teploty vzduchu má nicméně značný význam v reálné situaci (krátkodobé změny nemocnosti), kdy se tento vliv významně uplatňuje.

Obr. 16 - 18. Predikce výskytu ARI v závislosti na srážkách, vlhkosti a teplotě posunuté o 0 dní (vlevo), 1. den (uprostřed) a 7 dní (vpravo) se zohledněním týdne a roku v porovnání se skutečností (Data o chřipkové epidemii jsou vyloučena z výpočtu)



6. DISKUSE

6.1. Stanovení excesu úmrtí v důsledku chřipky

Je možné odhadnout, že během epidemických sezón 1982/1983 – 1999/2000 došlo v důsledku chřipky průměrně ke 2661 úmrtím za rok, což představuje 2,17% všech úmrtí v České republice. Při hodnocení vlivu chřipky na úmrtí na nemoci oběhové soustavy došlo průměrně každý rok k 1752 úmrtím, tj. k 2,57% z těchto úmrtí.

Není překvapením, že u úmrtí na nemoci oběhové soustavy je prokazován vyšší vliv chřipky ve srovnání se všemi úmrtími. Role řady původců infekčních onemocnění na vznik aterosklerózy je navíc dobře známá již více než století. Je prokázáno, že chřipka (resp. reakce imunitního systému na ni) působí na cévní systém na mnoha místech, především prostřednictvím výrazně zvýšeného počtu prozánětlivých a protrombotických cytokinů, což vede např. k dysfunkci endotelu, zvýšené viskozitě plazmy, tachykardii a uvolnění endogenních katecholaminů. Na základě klinických studií a pokusů se zvířaty někteří autoři naznačují, že virus chřipky může hrát v rozvoji aterosklerózy a jejích komplikací dokonce kauzální roli (94).

Bylo zjištěno, že průměrné zpoždění mezi maximem nemocnosti ARI (tj. vrcholem chřipkové epidemie) a maximem úmrtí je 1,14 týdne. Uvedené výsledky se podobají výsledkům studie prováděné v minulosti v USA, ve které docházelo k maximu úmrtí v důsledku chřipky, zánětu plic, ischemické choroby srdeční, hypertenze a cerebrovaskulárního onemocnění přibližně za 2 týdny po maximu chřipkové aktivity (95).

V České republice, podobně jako ve většině ostatních zemí, se při evidenci úmrtí z úmrtních listů zaznamenává pouze bezprostřední příčina smrti. Používání takovéto evidence úmrtí tudíž může vést k podcenění úmrtí na infekční nemoci jako je chřipka, neboť u těchto onemocnění obvykle není bezprostřední příčinou úmrtí virus chřipky, ale až druhotná komplikace (96;97). Použití statistického modelování k stanovení excesu úmrtí tudíž poskytuje důležitý náhled do skutečného vlivu infekčních onemocnění jako je chřipka.

Vzhledem k použitému přístupu je třeba zdůraznit, že neshoda čísel uváděných v této práci s oficiálně prezentovanými počty úmrtí na chřipku může být velká. Jde však především o výklad skutečnosti: zda nás zajímá jen a pouze kolik lidí zemřelo bezprostředně na chřipku (což může být např. v řádu několika desítek hodin od počátku onemocnění na primární chřipkový zánět plic (pneumonie) či primární chřipkový zánět srdečního svalu (myokarditida)) a nebo zda nás zajímá, kolik lidí skutečně zemřelo v důsledku chřipky. Termínem v „důsledku chřipky“ se rozumí situace, že člověk onemocněl chřipkou a v návaznosti na toto onemocnění u něho došlo např. k bakteriální pneumonii, metabolickému (diabetickému) rozvratu, zhoršení chronického onemocnění srdce a cév či jinému závažnému onemocnění nebo ke zhoršení dlouhodobého chronického onemocnění, které s odstupem i řady dní vede ke smrti dotyčného. V takovém případě je chřipka tím iniciátorem, který zahájí uvedenou kaskádu vedoucí až k případnému úmrtí. Při tomto pohledu je tudiž možné považovat zmíněné úmrtí za úmrtí v důsledku chřipky, neboť nebylo-li by na počátku onemocnění chřipkou, s velkou pravděpodobností by v dané chvíli nedošlo k následným smrtícím komplikacím. Tento postup výpočtu je v různých modifikacích standardně používán v mnoha zemích po desítky let (13;98-101). Je na místě dodat, že shodou okolností pravděpodobně jediná práce publikovaná v zahraničí (studie WHO ze 70. let 20. století), která alespoň částečně popisuje také česká data úmrtí ve vztahu ke chřipce, využívá obdobného přístupu k problematice (102).

Výše uváděný přístup, který byl použit i při zpracování dat v předložené práci, není skutečně žádnou novinkou poslední doby. Již „Zpráva o poměrech a zařízeních zdravotních v Království českém za leta 1893-95“ při popisu výskytu chřipky a evidovaných úmrtí uvádí: „**Poměrná úmrtnost, jak již povědomo, není nepříznivá; třeba však zřetel bráti k tomu, že při povážlivějších chřipkových epidemiích přibývá zpravidla nápadně úmrtnosti vůbec a zvláště následkem sešlosti věku, pak následkem zánětu plic, souchotin a vad srdečních. Přírůstek ten ovšem připadá na vrub chřipky**“ (48). Jedná se o léty vypozorovanou zkušenosť, která přináší významný důkaz pro podporu použité metodiky.

Zpracovaný model odhadu ročních počtů úmrtí, která je možné přisoudit chřipce, zcela výjimečně v některém roce dojde i k zápornému číslu. Je to obvykle v roce, v němž je chřipková epidemie velmi mírná nebo k ní ani nedošlo (virus chřipky pouze cirkuluje v populaci, ale nešíří se epidemicky). Zatímco velikost epidemie je plynule se zvyšující proměnná (od 0 do 100 %), stanovení, zda epidemie byla nebo nebyla, nabízí pouze dvě možnosti (ano či ne). Rozdíl modelu a skutečnosti by měl v běžném období (mimo epidemii) být jak kladný, tak i záporný a průměr těchto odchylek by měl být velmi blízko nuly. Ve výše uvedených letech tudíž může dojít i ke stanovení záporného výsledku, což není problém, ale naopak spíše potvrzení kvality modelu, který zbytečně průměrné počty „nenadsazuje“. K uvedeným výsledkům běžně dochází i jiných studiích (102;103).

Cílem práce bylo určit vliv chřipky na celkovou úmrtnost a na úmrtnost na nemoci oběhové soustavy. Doplňující výpočet excesu úmrtí pouze v období chřipkové epidemie zvyšuje pravděpodobnost, že exces úmrtí je specificky přisouditelný chřipce, neboť virus chřipky je v uvedeném období dominantním cirkulujícím virem. Uvedený doplňující postup představuje konzervativní (tj. nejnižší možný) odhad excesu úmrtí v důsledku chřipky.

Tato studie se zaměřila na analýzu veškerých úmrtí a úmrtí v důsledku nemoci oběhového systému. Na rozdíl od řady jiných prací nebylo pracováno se skupinou úmrtí v důsledku pneumonie a chřipky (P&I), které jsou velmi často používány k výpočtům vlivu chřipky v mnoha zemích, především USA (95;104-106). Důvod pro tento postup je jednoduchý: úmrtí na pneumonii v ČR byla totiž v důsledku obvyklých postupů a zvyklostí většinou vykazována jako kardiovaskulární úmrtí (RNDR. Eva Švandová, CSc., ústní sdělení). Z tohoto důvodu by použití úmrtí na P&I zásadním způsobem podcenilo skutečný rozsah úmrtí v souvislosti s onemocněním dýchacích cest.

Při zpracování dat byly použity metody vycházející z klasického Serflingova přístupu, který modeluje úmrtnosti pomocí odhadu „point-to-point“ pro cyklická data (107). Sekulární trend (způsobený populačním vývojem) byl potlačen zahrnutím počtu obyvatel v jednotlivých letech jako kovarianty použitého modelu. Použitý odhad založený na metodách pro cenzurovaná data zajistí využití maxima informace obsažené

v datech s respektováním skutečnosti, že v době epidemie je nutné počítat s tím, že počet zemřelých může být v jejím důsledku zvýšen.

V grafu 10 (str. 41) lze pozorovat pokles počtu úmrtí v České republice. Tento pokles by bylo možné částečně vysvětlit určitým zlepšením zdravotní péče (resp. dostupností nových zdravotnických technik) po změně politického systému v roce 1989, což vedlo k rychlému prodlužování průměrné délky života. Změna režimu také vedla k významné změně v demografickém složení populace během sledovaného období, bylo tedy nezbytné provést v modelu adjustaci na velikost jednotlivých skupin obyvatelstva.

Výsledky jednotlivých studií analyzujících vliv chřipky na exces úmrtí se mnohdy výrazně odlišují. Závěry této studie jsou srovnatelné s výsledky nového modelu zpracovaného americkým CDC (roční průměrný počet úmrtí v souvislosti s chřipkou ve výši 2,2% všech úmrtí) (13) a v Anglii a Walesu (2,3% ze všech úmrtí) (103).

Během sezón, kdy chřipková aktivita v České republice byla nízká (např. 1987/1988 a 1994/1995), byla úmrtnost také nízká. Nejvyšší počty úmrtí během chřipkových epidemií byly spojeny s cirkulací viru chřipky subtypu A/H₃N₂. Je totiž dobře známo, že virus chřipky A (H₃N₂) způsobuje závažnější průběh onemocnění (108). Virus A/H₃N₂ byl v ČR dominantním cirkulujícím virem během všech sezón, ve kterých exces úmrtí pouze za období chřipkové epidemie přesáhl 1 000 úmrtí (1982/1983, 1985/1986, 1991/1992, 1995/1996, 1998/1999, 1999/2000).

6.2. Surveillance ARI v České republice

V ČR je v rámci virologické surveillance ARI rutinně sledována cirkulace celé řady významných původců respiračních onemocnění (influenza A, influenza B, respirační syncytialní virus, adenoviry, viry parainfluenzy a *Mycoplasma pneumoniae*) (109-111). Období chřipkové epidemie bylo definováno nejen jako vzestup nemocnosti ARI nad epidemický práh, ale současně i jako laboratorně prokázaná cirkulace viru chřipky, kdy virus chřipky byl dominantní mezi sledovanými viry. Ostatní sledované viry v období chřipkové epidemie cirkulovaly jen v omezené míře a jejich podíl na úmrtí je tudíž značně omezený.

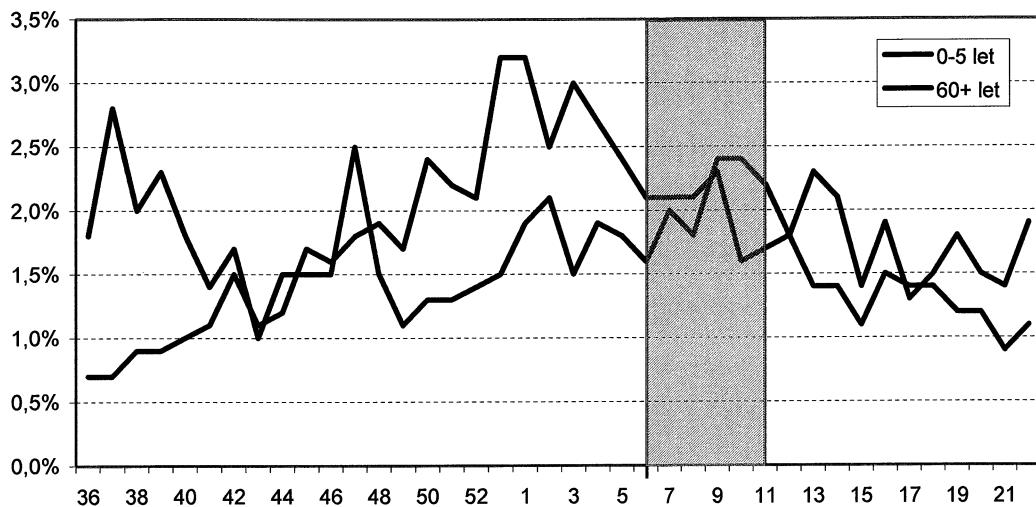
Systém Hlášení ARI rutinně sbírá vedle dat o výskytu ARI v ČR též data o výskytu komplikací ARI. Vzhledem k tomu, že během studovaného období data o výskytu komplikací nebyla sbírána v jednotlivých krajích ČR jednotně, není možné analyzovat výskyt komplikací ARI na úrovni celé ČR a porovnávat je s ostatními analyzovanými daty.

Dalším důvodem, proč nebyla data o výskytu komplikací analyzována, je skutečnost, že ze zjišťovaných údajů není jednoznačně zřejmé, k jakému onemocnění ARI (resp. týdnu onemocnění) se komplikace vztahuje. Tyto identifikátory nejsou zapotřebí pro běžné sledování nemocnosti a výskytu komplikací, kdy je zjišťuje především aktuální nemocnost a její dynamika.

Navíc, komplikace ARI jsou obvykle bakteriálního původu (na rozdíl od převážně virových původců ARI). Charakteristiky komplikací respiračních onemocnění se tudíž mohou odlišovat od charakteristik a vlastností ARI a jejich případná analýza již značně přesahuje rozsah této práce. Lze snad jen dodat, že při analýze výskytu komplikací v sezóně 2004/2005 bylo zajímavé zjištění, že v nejvyšší věkové skupině (60+ let) je podíl komplikací vzhledem k ARI téměř nezávislý na ročním období či chřipkové epidemii. Ve všech ostatních věkových skupinách a zejména ve skupině předškolních dětí je zřetelná dynamika proporce komplikací vůči ARI s maximem na přelomu roku (graf 11) (110).

Systém Hlášení ARI v současnosti sbírá také data o výskytu chřipkových onemocnění, tzv. ILI (influenza-like illness) a to na základě Standardů - definic případů infekčních onemocnění vyplývajících z Rozhodnutí č. 2119/98 EC Evropského parlamentu a Rady, které jsou určeny pro hlášení infekčních onemocnění podle § 62 odst. 1 zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví. Standardy - definice případů infekčních onemocnění byly přijaty rozhodnutím EC dne 19.března 2002 (2002/253/EC). V České republice byl úplný překlad definic případů uveřejněn ve Věstníku Ministerstva zdravotnictví v prosinci 2002, částka 13. Pilotní studie hlášení výskytu ILI v ČR je v provozu až od ledna 2004, tj. není součástí sledovaného období dizertace. Z tohoto důvodu data o výskytu ILI nejsou uváděna.

Graf 11. Týdenní proporce komplikací vzhledem k ARI v sezóně 2004/2005 u vybraných věkových skupin, s vyznačením období chřipkové epidemie (šedý pás)
 (Převzato z: Havlíčková M, Otavová M, Kyncl J. Surveillance akutních respiračních infekcí (ARI) v České republice v sezóně 2004/2005. Zprávy CEM (SZÚ, Praha), 2005)



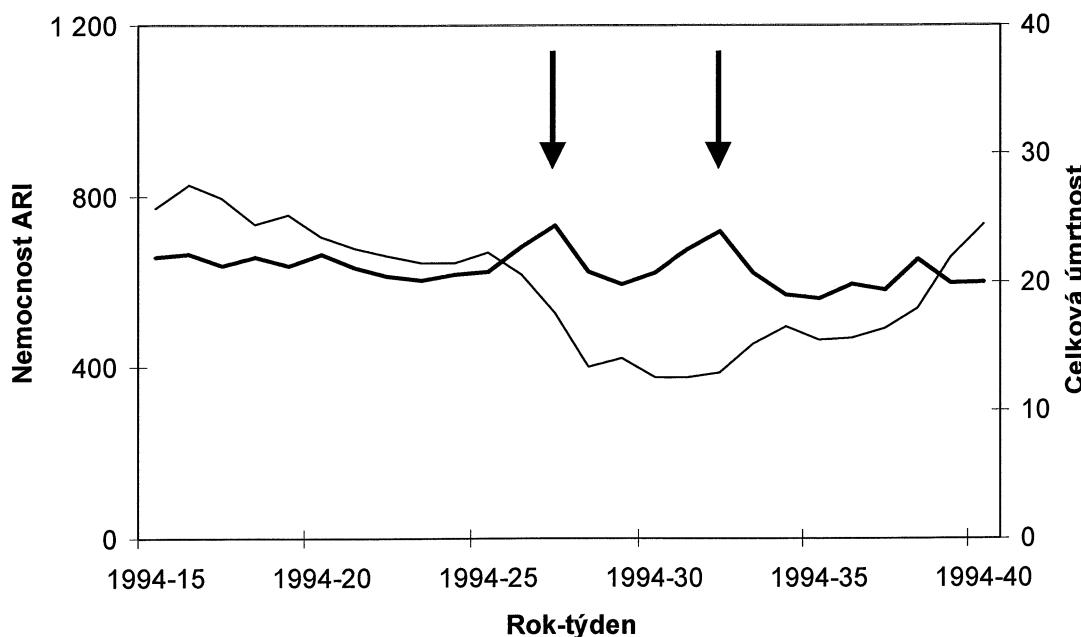
6.3. Vliv teploty a znečištění ovzduší na exces úmrtí

K excesu úmrtí může dojít z různých příčin a v kteroukoliv roční dobou; nejedná se pouze o zimní fenomén. Letní excesy úmrtí mohou být např. způsobeny jevem zvaným „heat stress“ (112). Největší počet úmrtí souvisejících s horkem je soustředěn do velkoměst v mírných a subtropických oblastech, ohroženými skupinami jsou zvláště starší lidé, malé děti a lidé dlouhodobě nemocní. Většina úmrtí je spojena se zhoršením chronického onemocnění, nejčastěji kardiovaskulárního, cévního mozkového nebo nemocí dýchacího ústrojí. Přestože část obětí tvoří lidé, kteří by zemřeli brzy bez ohledu na extrémní podmínky počasí (což vede k obvyklému poklesu úmrtnosti po horkém období), mají vyšší teploty a výskyt horkých vln za následek zvýšení celkové úmrtnosti v letní části roku. V řadě prací byla zjištěna existence prahové teploty, při jejímž překročení dochází k nárůstu úmrtnosti. Pro Evropu se častěji hovoří (pro celý rok) o závislosti ve tvaru písmene U nebo J s minimální úmrtností okolo určité teploty; její hodnota závisí na konkrétní geografické poloze. Např. v Řecku je to 23 °C, v Nizozemsku a jižní Finsku 16 °C. Nárůst úmrtnosti s klesajícími teplotami v zimě (viz dále) bývá výrazně pozvolnější než se zvyšujícími se teplotami v létě (113).

Přestože počet úmrtí ze stresu z horka je většinou několikanásobně nižší než počet úmrtí v souvislosti s chřipkou, je možné tento fenomén zaznamenat i v této práci. Důsledek dvou několikatýdenních vln extrémních veder v létě roku 1994 v ČR lze pozorovat na grafu 10 (str. 41), resp. podstatně lépe na výřezu na grafu 12, který zobrazuje příslušná data za období 15. – 40. týdne roku 1994.

Graf 12. Akutní respirační infekce (tenká červená čára, levá osa) a celková úmrtnost (silná modrá čára, pravá osa) na 100 000 obyvatel, po týdnech v 15.-40. týdnu roku 1994

Pozn.: Šipky označují maxima úmrtí během dvou vln extrémních veder



V zimě může přispět k excesu úmrtí také znečištění ovzduší. V této práci nebylo možné provést adjustaci na vliv znečištění ovzduší, protože data o kvalitě ovzduší v České republice nejsou dostupná v mezinárodně porovnatelném formátu až do roku 1993 (RNDr. Bohumil Kotlík, ústní sdělení). Navíc, vzhledem k výraznému zlepšení kvality ovzduší v ČR v posledních letech (114) je nyní velmi obtížné dokázat příčinný vztah mezi znečištěním ovzduší a akutním účinkem na zdraví. Studie analyzující vztah mezi nemocností či úmrtností a znečištěním ovzduší existují samozřejmě i ve střední Evropě (115;116); problematika znečištění ovzduší však již není tak aktuální jako v minulosti.

Úmrtnostní studie nicméně naznačují, že vztah expozice-odezva pro pevné znečišťující částice v ovzduší je téměř lineární, a to jak v případě krátkodobé, tak i dlouhodobé expozice (28), přičemž neexistuje zřetelný bezpečný limit pro určitou nízkou koncentraci. V současné době se studie zaměřují na roli znečištění ovzduší na onemocnění srdce a cév při dlouhodobé expozici, která, podobně jako kouření cigaret, podporuje zánětlivé změny a rozvoj aterosklerózy.

Toto dokumentuje i studie sledující výskyt respiračních onemocnění v Utahu (USA) v oblasti znečištěné z místní ocelárny v 80. letech 20. století, která potvrdila zvýšený výskyt respiračních onemocnění u obyvatel v době zvýšené koncentrace znečišťujících látek v ovzduší (29). Ocelárna byla více než 1 rok mimo provoz a bylo tudíž možné sledovat výskyt onemocnění v tomto období a porovnat jej s předcházejícím obdobím a potom po opětovném uvedení do provozu. V měsících, kdy aritmetický průměr 24hodinových koncentrací PM_{10} přesáhl limit $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$, byl zjištěn téměř trojnásobný počet příjmů dětí (0-17 let) do nemocnic; u dospělých byly příjmy zvýšené o 44%. Ve měsících, kdy průměrné koncentrace PM_{10} přesáhly $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$, byly dětské příjmy zvýšené téměř na dvojnásobek oproti měsícům s průměrnou koncentrací pod $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (u dospělých bylo pozorováno zvýšení o 47%). Důvodem pro akutní hospitalizaci byla zejména bronchitida a astma, méně pak pneumonie a pleuritida. Uvedená studie je výjimečná tím, že ve sledované lokalitě kouří pouze 5,5% dospělé populace (cca 90% obyvatelstva jsou Mormoni, jejichž přesvědčení je silně protikuřácké) a tak je výrazně odfiltrováno kouření jako matoucí faktor výskytu respiračních onemocnění.

Jak již bylo výše uvedeno, k excesu zimní úmrtnosti může přispívat i nízká teplota. Názory na význam vlivu teploty na úmrtnost se mnohdy výrazně liší, obvykle to souvisí se způsobem výpočtu tohoto vlivu (96;97;117). Je velmi zajímavé, že ve Velké Británii je ve srovnání s ostatními zeměmi pozorována podstatně vyšší úroveň zimní úmrtnosti a byla nalezena silná negativní souvislost úmrtnosti s teplotou (38). Přitom ve Velké Británii je vzhledem k přímořskému klimatu relativně malý rozdíl mezi letními a zimními teplotami. Tento „paradox“ lze zřejmě částečně vysvětlit právě tímto malým rozdílem venkovních teplot, který často vede k nevhodnému způsobu bydlení a nedostatku ústředního topení, resp. topení obecně. Nízké teploty v obydlích jsou dále způsobeny velkou finanční náročností topení ve Velké Británii (38).

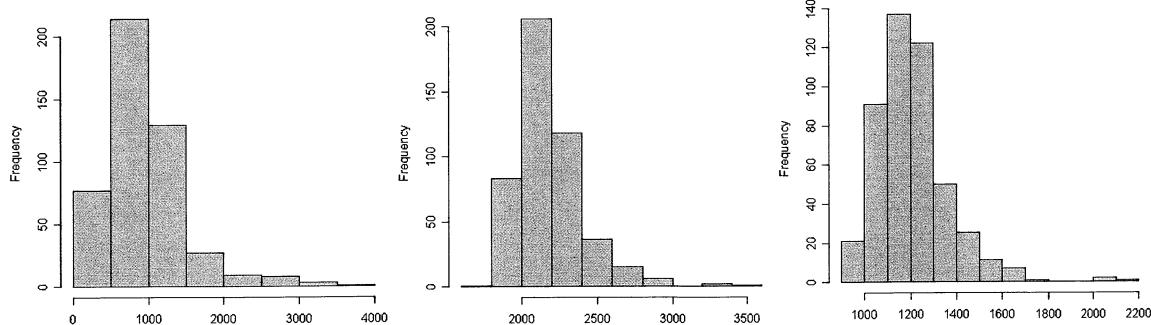
Závislost úmrtnosti na nízké venkovní teplotě naopak nebyla nalezena ve velmi chladných podmínkách Sibiře (průměrná zimní teplota $-26,6^{\circ}\text{C}$) (118). Lidé se v těchto oblastech velmi teple oblekají a v období extrémních mrazů (-40°C až -50°C) mnohem častěji než normálně zůstávají v dobře vytopených domovech, kde je teplota údajně 18°C až 19°C .

6.4. Vztah úmrtnosti a nemocnosti ARI

Nalezení statisticky významné závislosti mezi týdenní nemocností ARI a týdenní úmrtností je dalším způsobem potvrzení závažnosti akutních respiračních onemocnění.

K výpočtům nebyl použit Pearsonův korelační koeficient (r), protože rozložení sledovaných veličin (nemocnost ARI, počty úmrtí) není možné považovat za normální, neboť rozložení není symetrické. Tato skutečnost je zcela zřejmá z histogramů na obr. 19-21.

Obr. 19-21. Histogram relativní nemocnosti ARI (vlevo), celkových počtů úmrtí (uprostřed) a počtů úmrtí na nemoci oběhové soustavy (vpravo)



Z tohoto důvodu bylo při výpočtu použito Spearmanova korelačního koeficientu (ρ), který nemá žádné požadavky na tvar rozložení dat.

Na celostátní úrovni docházelo ke změnám nemocnosti ARI věkových skupin 0-5 let, 6-14 let a 15+ let především ve stejném týdnu. Nebyl prokázán časový posun dynamiky nemocnosti určité věkové skupiny ve srovnání s ostatními. Pokud dochází k určitému posunu nemocnosti mezi jednotlivými věkovými skupinami, je tento posun

kratší než 1 týden a dlouhodobě sledované týdenní ukazatele nemocnosti jej neumožňují zjistit.

6.5. Vliv klimatických faktorů na výskyt ARI

Při analýze závislosti výskytu ARI na teplotě byla sledována korelace nemocnosti a teploty posunuté mezi sebou o 0 až 7 dní, jednak s úplným vyloučením dat o chřipkové epidemii a jednak s censorováním dat o chřipkové epidemii. Vyloučení dat má nevýhodu v tom, že se řada dat zmenší a výsledky jsou méně přesné. V případě censorování dat o chřipkové epidemii se část informace obsažené v datech využije, neboť se odstraní pouze „epidemická část“ dat (navýšení nemocnosti způsobené epidemii), která je způsobena především zcela specifickými vlastnostmi chřipkového viru expozitivně se šířit mezi lidmi. Přestože se oba přístupy poněkud odlišují, v tomto případě poskytují obdobné výsledky, které prokazují vliv teploty na výskyt ARI.

Při zpracování metodou vyloučení dat za období chřipkové epidemie bylo dále použito též obecného lineárního modelu (GLM) pro Poissonovo rozložení. Jedná se o přesnější model pro situaci tohoto typu a lze ho s úspěchem použít v případě vyloučení dat o chřipkové epidemii, kde poskytuje přesnější výsledky. I v tomto případě se výsledky neodlišovaly od předchozích a potvrzovaly, že ke zvýšení nemocnosti ARI obvykle dochází s odstupem 1 až 2 dnů po snížení teploty vzduchu (výsledky neuvedeny). V případě zpracování metodikou censorování dat je však použití tohoto postupu problematické. Skutečnost, že snížení teploty vzduchu vede ke zvýšenému počtu respiračních onemocnění, byla prokázána také v dalších studiích v minulosti i v současnosti (119;120).

Existuje řada přístupů, které lze použít při modelování výskytu ARI v závislosti na klimatických faktorech. V případech, kdy výskyt onemocnění v časové řadě vykazuje určitý trend, je při výpočtu vhodné provést také adjustaci na rok. Vliv klimatických faktorů je do jisté míry omezený, resp. je obsažen již v samotné sezónnosti, která je pochopitelně ovlivněna především teplotou. Obě zmíněné skutečnosti přehledně zobrazují obrázky 14 a 15 (str. 51), které dokladují silnou vazbu nemocnosti ARI k týdnemu onemocnění a rozdíl mezi nimi podporuje vhodnost zohlednění trendu v jednotlivých letech.

Důvodem použití trendu je dlouhodobý vývoj nemocnosti. „Adjustace na rok“ v sobě navíc dále zahrnuje adjustaci na dlouhodobý klimatický vývoj i na případný zcela jiný vývoj populace (společnosti). Studium faktorů ovlivňujících dlouhodobý trend je nad rámec této práce, proto je tento trend jen odstraňován (a to nejjednodušším způsobem – lineárně).

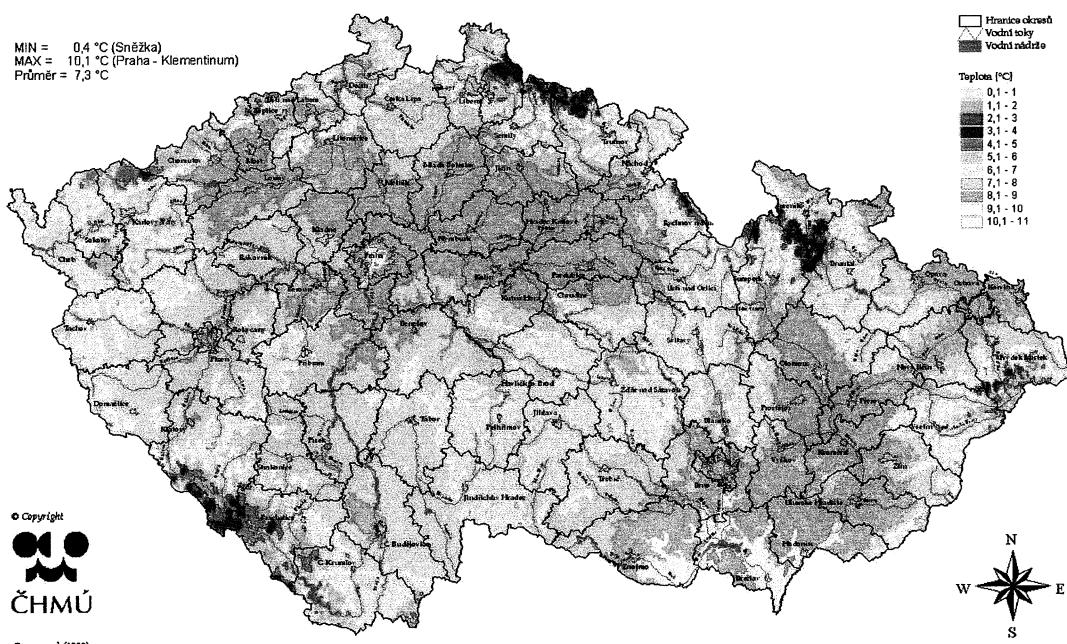
V neposlední řadě by neměla být opominuta otázka tzv. změny klimatu. Termín „změna klimatu“ má několik významů. Obecně se pod změnou klimatu rozumí změna vyvolaná jakýmkoliv vnějším či vnitřním faktorem, včetně změn vyvolaných lidskou činností. Často se rozlišují tzv. přirozené změny klimatu a změny vyvolané lidskou činností (antropogenní změny). V Rámcové úmluvě Organizace spojených národů (OSN) o změnách klimatu se pod změnou klimatu rozumí změna vyvolaná přímo nebo nepřímo lidskou činností, a sice takovou, která vede ke změnám ve složení atmosféry v globálním měřítku a která představuje přídavek k přirozené proměnlivosti (variabilitě) klimatu ve srovnatelných časových obdobích. Jedná se tedy o užší pojetí, které je nutné respektovat při interpretaci výsledků klimatických modelů (91).

V předložené práci je případný efekt v důsledku výše popisované změny klimatu do jisté míry obsažen v trendu výskytu onemocnění. Uváděný faktor byl tudíž v zásadě odstraněn adjustací na rok, která byla použita při výpočtech. Pro účely této práce je však mnohem důležitější zohlednit případný vliv krátkodobých změn klimatických faktorů (které nejlépe reprezentuje teplota) na výskyt onemocnění. Za tímto účelem byla zjištována velikost odchylky aktuální teploty od denních průměrů teplot vzduchu za období 1961 – 1990. Tento rozdíl byl následně porovnán s příslušnou nemocností ARI, avšak závislost překvapivě nebyla zjištěna (data neprezentována). Toto zjištění do jisté míry nepotvrzuje předchozí výsledky prokazující zvýšení nemocnosti v krátké době po snížení teploty vzduchu, je však způsobené použitým přístupem porovnávání dlouhodobých řad dat, v nichž mohou být i velké odchylky od průměru významně potlačeny. Detailní studium vlivu krátkodobých odchylek od průměrné teploty na nemocnost při použití vybraných kratších časových období může být zajímavým námětem pro další studie. Výsledky však naznačují, že mechanismus působení teploty na výskyt ARI je již dobře popsán sezonalitou, případně že takovýto mechanismus je značně složitější (vzhledem k tomu, že může být ovlivněn pobytom v uzavřeném

prostředí, vlivem změn a ne absolutních hodnot, provázaností faktorů, náhodným charakterem výskytu infekčních onemocnění a řadou dalších činitelů).

Obr. 22 pro ilustraci zobrazuje průměrnou teplotu vzduchu na území ČR. V této souvislosti je vhodné dále dodat, že uváděná teplota, vlhkost či srážky se váží jen k celé ČR nebo k jednomu místu a ne ke konkrétnímu případu onemocnění. Z tohoto důvodu je zde možný velký zdroj variability. Navíc je to klima venkovního prostředí a lidé v něm netráví denně celých 24 hodin, jsou především v interiéru. Nicméně pobyt osob ve vnitřním prostředí, resp. venku je do jisté míry opět ovlivněn počasím.

Obr. 22. Průměrná roční teplota vzduchu v ČR za období 1961-1990 (převzato z ČHMÚ)



6.6. Očkování proti chřipce

Na rozdíl od mnoha západoevropských zemí či USA byla v České republice ve sledovaném období relativně velmi nízká proočkovanost proti chřipce (67). Nejvyšší pokrytí bylo v roce 2000, kdy dosáhlo 3,8% populace; k určitému zvýšení počtu podaných vakcín došlo teprve po roce 2000. Z hlediska provedené studie je nízká proočkovanost paradoxně určitou výhodou, neboť není pochyb o tom, že případný vliv ochranného očkování na nemocnost a úmrtnost je nízký.

Snahy o zvýšení proočkovanosti proti chřipce byly v některých zemích provázeny masivními kampaněmi. Očkování bylo a je doporučováno ze strany orgánů ochrany veřejného zdraví, zdravotních pojišťoven i zaměstnavatelů. Vysoká proočkovanost rizikových skupin populace je v mnoha zemích již několik let skutečností (67;121). Mezi jednotlivými zeměmi jsou však i nadále výrazné rozdíly – jak v množství distribuovaných očkovacích látek, tak v rychlosti zvýšení proočkovanosti. Srovnání situace v 56 zemích v roce 1997 a 2003 uvádí graf 13 (122).

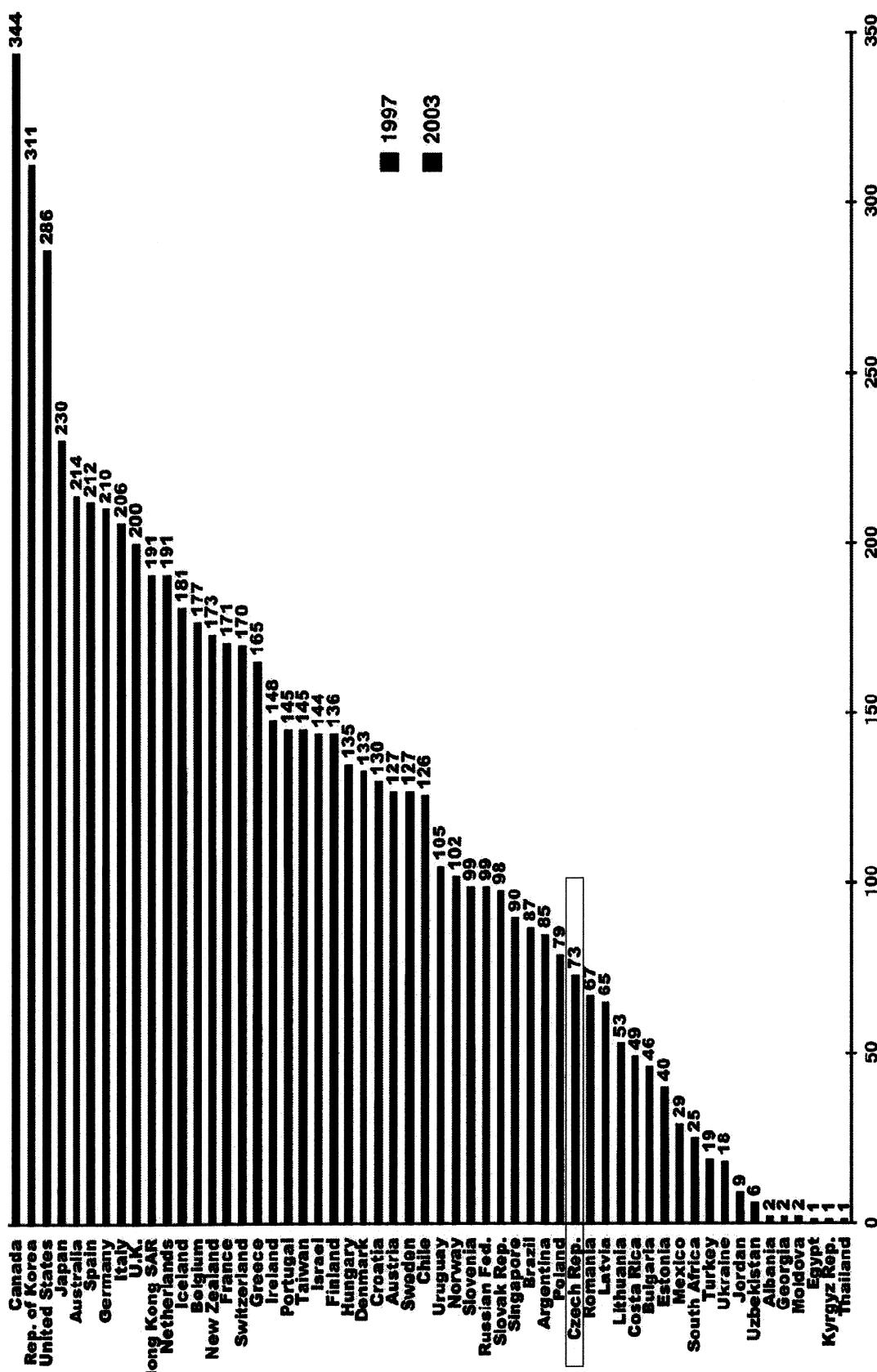
V některých zemích, v nichž je úroveň proočkovanosti vysoká, se v posledních letech chřipková onemocnění vyskytovala v menší míře (123), avšak na vyvození nějakých závěrů je zatím příliš brzy.

Diskutovat otázku účinnosti a efektivity protichřipkové vakcinace není nutné, neboť je snad již zcela zřejmá. V poslední době se diskuse spíše věnuje otázce „cost-saving“ či „cost-effectiveness“ očkování konkrétních skupin populace a zde jednoznačný názor zatím nepanuje. Mezi další diskutabilní oblasti patří volba rizikových, případně vysoko rizikových skupin populace, pro které by očkování mělo být přednostně doporučováno. V tomto směru se doporučení jednotlivých zemí mnohdy značně odlišují (12;67).

Téměř všechny studie prokazují snížení nemocnosti a úmrtnosti po očkování proti chřipce. Lze se tudíž domnívat, že zvýšení proočkovanosti proti chřipce v ČR povede k prevenci nemocnosti v souvislosti s chřipkou a tím i ke snížení počtu úmrtí. Výsledky této studie naznačují, že více než 2% úmrtí jsou v důsledku chřipky. Nelze se však domnívat, že by zvýšením proočkovanosti došlo k výraznému poklesu počtu úmrtí.

**Graf 13. Počty distribuovaných vakcín proti chřipce na 1 000 obyvatel v 56 zemích.
Srovnání roku 1997 a 2003**

(Převzato z: Fedson DS. The macroepidemiology of influenza vaccination in 56 countries, 1997-2003. Vaccine 2005, in press.)



7. ZÁVĚR

Epidemiologie akutních respiračních onemocnění je v současné době relativně dobře pochopena. Jsou dobře zdokumentovány jasné souvislosti mezi výskytem onemocnění a jiným chronickým onemocněním u dospělých, kouřením a přelidněním. Další upřesňování jednotlivých detailů je ale složité. Akutní respirační infekce jsou velká skupina onemocnění s různým klinickým průběhem. Původcem těchto onemocnění je obrovské spektrum etiologických agens, převážně virových, ale i bakteriálních. Většina agens je schopná vyvolat různě závažné onemocnění, bez virologického vyšetření nelze jednoznačně určit etiologii konkrétního onemocnění a naopak. Na vzniku onemocnění a jeho dalším šíření se uplatňuje velké množství faktorů, stanovit jejich samostatný vliv a význam je často problematické. Význam infekčních a neinfekčních faktorů na vznik akutního respiračního onemocnění i nadále zůstává ne zcela vyřešeným problémem.

Je prokázán vztah klimatických faktorů a výskytu akutních respiračních infekcí. Významný vliv má především teplota. Podobný vliv má i sezónnost (týden onemocnění), neboť teplota má významně sezónní závislost. Je tedy spíše otázkou interpretace, kterou z uvedených proměnných – sezónu či teplotu – považovat za primární činitel. Teplota je natolik svázána se sezonalitou, že je (z pohledu vlivu na výskyt ARI) není možné rozlišit. Užitečným zjištěním pro praktické použití nicméně může být skutečnost, že ke zvýšení nemocnosti akutních respiračních infekcí obvykle dochází s odstupem 1 až 2 dny po snížení teploty vzduchu.

Nejvíce specifickým onemocněním ve skupině akutních respiračních infekcí je chřipka. Chřipka je relativně závažná infekce, v České republice každoročně způsobí onemocnění statisíců obyvatel a ve svém důsledku vede ke zbytečným úmrtím. V ČR dochází každoročně v průměru k 2 661 úmrtím v souvislosti s chřipkou, což představuje 2,17% všech úmrtí. Zvýšení proočkovosti proti chřipce povede k prevenci nemocnosti v souvislosti s chřipkou a tím i k určitému snížení počtu úmrtí.

8. SEZNAM TABULEK, OBRÁZKŮ A GRAFŮ POUŽITÝCH V TEXTU

Graf 1. Počet pozitivních detekcí jednotlivých etiologických agens ve vyšetřeném biologickém materiálu v ČR v kalendářních týdnech sezóny 2002/2003

Graf 2. Počet pozitivních sérologických průkazů jednotlivých etiologických agens ve vyšetřeném biologickém materiálu v ČR v kalendářních týdnech sezóny 2002/2003

Graf 3. Počet pozitivních detekcí jednotlivých etiologických agens ve vyšetřeném biologickém materiálu v ČR v kalendářních týdnech sezóny 2001/2002

Graf 4. Počet pozitivních sérologických průkazů jednotlivých etiologických agens ve vyšetřeném biologickém materiálu v ČR v kalendářních týdnech sezóny 2001/2002

Graf 5. Věkově specifická úmrtnost v 1. a 4. čtvrtletí 1918 v Anglii a Walesu

Graf 6. Hlášená úmrtnost na chřipku v České republice, na 100 000 obyvatel, 1919-2002

Graf 7. Počty distribuovaných vakcín proti chřipce na 1000 obyvatel v roce 2000

Graf 8. Možný vliv uzavření škol na výskyt akutních respiračních onemocnění v jednom z krajů ČR

Graf 9. Týdenní relativní nemocnost ARI ve sledovaných věkových skupinách v ČR, 1985-1999

Graf 10. Akutní respirační infekce a celková úmrtnost na 100 000 obyvatel, po týdnech, sezóna 1982/1983 – 1999/2000

Graf 11. Týdenní proporce komplikací vzhledem k ARI v sezóně 2004/2005 u vybraných věkových skupin, s vyznačením období chřipkové epidemie

Graf 12. Akutní respirační infekce a celková úmrtnost na 100 000 obyvatel, po týdnech v 15.-40. týdnu roku 1994

Graf 13. Počty distribuovaných vakcín proti chřipce na 1 000 obyvatel v 56 zemích. Srovnání roku 1997 a 2003

Obr. 1. Výskyt chřipky v roce 1895

Obr. 2. Předpokládaný mechanismus vzniku antigenního shiftu

Obr. 3. Výskyt chřipkových virů u lidí od roku 1918

Obr. 4. Sezónní výskyt chřipky

Obr. 5. Bodový graf závislosti týdenní úmrtnosti na nemocnosti ARI

Obr. 6. Adjustované týdenní úmrtnosti a použitý model

Obr. 7. Histogram reziduí dat mezi pozorovanými a modelovanými počty úmrtí v průběhu chřipkové epidemie a v neepidemických týdnech

Obr. 8. Adjustované týdenní úmrtnosti na nemoci oběhové soustavy a použitý model

Obr. 9 a 10. Predikce neepidemického výskytu ARI v závislosti na srážkách, vlhkosti a teplotě bez zohlednění týdne, resp. se zohledněním týdne v porovnání se skutečností

Obr. 11 a 12. Predikce výskytu ARI v závislosti na srážkách, vlhkosti a teplotě bez zohlednění týdne, resp. se zohledněním týdne v porovnání se skutečností

Obr. 13. Predikce výskytu ARI v závislosti na teplotě bez zohlednění týdne výskytu a porovnání se skutečností

Obr. 14 a 15. Predikce výskytu ARI v závislosti na týdnu onemocnění bez zohlednění roku onemocnění, resp. se zohledněním roku onemocnění v porovnání se skutečností

Obr. 16-18. Predikce výskytu ARI v závislosti na srážkách, vlhkosti a teplotě posunuté o 0 dní, 1. den a 7 dní se zohledněním týdne a roku v porovnání se skutečností

Obr. 19-21. Histogram relativní nemocnosti ARI, celkových počtů úmrtí a počtů úmrtí na nemoci oběhové soustavy

Obr. 22. Průměrná roční teplota vzduchu v ČR za období 1961-1990

Tab. 1. Onemocnění definovaná jako ARI pro potřeby hlášení

Tab. 2. Korelace mezi nemocností v jednotlivých věkových skupinách posunutých vůči sobě o 0, 1 a 2 týdny

Tab. 3. Korelace mezi týdenní celkovou nemocností ARI a úmrtností

Tab. 4. Odhad ročního počtu úmrtí, který je možné přisoudit chřipce v ČR, 1982 – 2000

Tab. 5. Hodnota koeficientu týdne pro výpočet odhadu nemocnosti ARI v závislosti na klimatických proměnných

Tab. 6. Korelace nemocnosti ARI a teploty posunuté mezi sebou o 0 až 7 dní pro neepidemické a pro epidemické týdny

Tab. 7. Test vlivu teploty na ARI při zohlednění srážek, vlhkosti, roku a týdne

9. SEZNAM ZKRATEK

95% CI	95%-ní interval spolehlivosti
ARI	Akutní respirační infekce
CDC	Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí
CEM	Centrum epidemiologie a mikrobiologie
ČHMÚ	Český hydrometeorologický ústav
EC	Evropské společenství
EISS	European Influenza Surveillance Scheme
H	Hemaglutinin
ILI	Influenza-like illness
MDCK	Buněčná kultura Madin Darby Canine Kidney
MKN	Mezinárodní klasifikace nemocí
N	Neuraminidáza
NRL	Národní referenční laboratoř
KHS	Krajská hygienická stanice
OSN	Organizace spojených národů
P&I	Pneumonie a chřipka
PM _{2,5}	Částice o průměru menším než 2,5 µm
PM ₁₀	Částice o průměru menším než 10 µm
RSV	Respirační syncytiaální virus
SZÚ	Státní zdravotní ústav
UK	Spojené království Velké Británie a Severního Irska
USA	Spojené státy americké
WHO	Světová zdravotnická organizace

10. PŘEHLED PRACÍ AUTORA V SOUVISLOSTI S DIZERTACÍ

Poznámka: Impact faktor (práce 25 a 27), resp. ocenění (práce 12) jsou uvedeny tučně za příslušnou citací, publikace zahraniční a práce zásadnějšího charakteru v souvislosti s dizertací jsou podbarveny. Publikace s IF jsou součástí dizertace.

1. Havlíčková M., Otavová M., Štumpa A., Kyncl J.: Zpráva NRL pro chřipku a NRL pro nechřipkové respirační viry za sezónu 1998/1999. Zprávy CEM, 8, 1999, č. 5, s. 180-2.
2. Kyncl J.: Chřipka – poznámky k prevenci a léčbě. JAMA-CS, 7, 1999, č. 11, s. 816-817.
3. Havlíčková M., Štumpa A., Otavová M., Kyncl J., Limberková R.: NRL pro chřipku a NRL pro nechřipkové respirační viry: závěrečná zpráva za sezónu 1999/2000. Zprávy CEM, 9, 2000, č. 5, s. 208-212.
4. Kolektiv autorů (Kyncl J., Marešová V., Příborský J., Zicha J., Žampachová E.): Zásady diagnostiky a terapie chřipky. Maxdorf, 2000, 19 s.
5. Otavová M., Havlíčková M., Štumpa A., Kyncl J.: Doporučený postup při odběru materiálu pro vyšetření respiračních virů. Zprávy CEM, 9, 2000, č. 9, s. 369-370.
6. Kyncl J., Príkazský V., Pikhart H., Částková J., Kříž B.: Analysis of acute respiratory infection morbidity and occurrence of complications in the Czech Republic, 1985 - 1999. Options for the Control of Influenza IV, Hersonissos, Greece, 23-28 Sept 2000, poster č. 1-2, sborník abstrakt s. 76.
7. Kyncl J., Beneš Č.: Systém hlášení akutních respiračních onemocnění v ČR. Zprávy CEM, 9, 2000, č. 11, s. 452-3.
8. Kříž B., Kyncl J.: Natural Outbreaks of Disease: Communicable Disease Surveillance in the Czech Republic. In: Dando M., Pearson G., Kriz B., eds. Scientific and Technical Means of Distinguishing Between Natural and Other Outbreaks of Disease. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, 2001, s. 35-39.
9. Havlíčková M., Kyncl J., Otavová M., Brynychová D., Lukášová M., Limberková R.: Zpráva NRL pro chřipku a NRL pro nechřipkové respirační viry za sezónu 2000/2001. Zprávy CEM, 10, 2001, č. 6, s. 236-240.
10. Otavová M., Kyncl J.: Tajemný virus chřipky. Živa, 2002, č. 1, s. 5-8.
11. Havlíčková M., Otavová M., Kyncl J., Brynychová D., Limberková R., Táčner J.: Surveillance akutních respiračních onemocnění (ARO) v České republice v sezóně 2001/2002. Zprávy CEM (SZÚ, Praha), 11, 2002, č. 7, s. 299-302.
12. Kyncl J., Procházka B., Beneš Č., Havlíčková M., Kříž, B.: Improving the acute respiratory infection notification system in the Czech Republic. The First European Influenza Conference, St.-Julians, Malta, 20-23 October 2002, poster č. P-W1-11,

sborník abstrakt s. 54. (**European Scientific Working Group on Influenza (ESWI) Young scientist award – best poster presentation at the First European Influenza Conference**)

13. Havlíčková M., Fischlová D., Kyncl J., Havlová J.: Economic impact of influenza in the Czech Republic in the year 2000. The First European Influenza Conference, St.-Julians, Malta, 20-23 October 2002, poster č. P-W8-7, sborník abstrakt s. 82.
14. Havlíčková M., Kyncl J.: Těžký akutní respirační syndrom (Severe Acute Respiratory Syndrom, SARS). Zprávy CEM (SZÚ, Praha), 12, 2003, č. 3, s. 113-114.
15. Jindrák V., Havlíčková M., Kříž B., Kyncl J., Otavová M., Urbášková P., Žampachová E.: SARS – Pokyny pro terénní pracoviště klinické mikrobiologie. Zprávy CEM (SZÚ, Praha), 12, 2003, č. 3, s. 114-116.
16. Kyncl J., Havlíčková M., Otavová M., Táčner J.: Aktuální vývoj situace u SARS. Zprávy CEM (SZÚ, Praha), 12, 2003, č. 4, s. 157-160.
17. Kyncl J., Otavová M.: Pokyny pro zacházení s pacienty podezřelými ze SARS a s jejich kontakty. Tempus medicorum, 2003, č. 6, s. 34-35.
18. Havlíčková M., Otavová M., Kyncl J., Táčner J., Brynýchová D., Limberková R.: Surveillance akutních respiračních onemocnění (ARO) v České republice v sezóně 2002/2003. Zprávy CEM (SZÚ, Praha), 12, 2003, č. 6, s. 259-264.
19. Kyncl J., Havlíčková M., Otavová M., Táčner J., Schramlová J., Limberková R.: SARS lze považovat za první skutečně vážnou hrozbu 21. století. Zdravotnické noviny, 52, 2003, č. 35, příloha Lékařské listy, s. 8-12.
20. Goddard NL., Kyncl J., Watson JM.: Appropriateness of thresholds currently used to describe influenza activity in England. Communicable Disease and Public Health, 6, 2003, č. 3, s. 238-245.
21. Oxford J., Manuguerra J., Kistner O., Linde A., Kunze M., Lange W., Schweiger B., Spala G., Rebelo de Andrade H., Pérez Broňa P., Beytout J., Brydak L., Caraffa de Stefano D., Hunghes O., Kyncl J., Montomoli E., Gil de Miguel A., Vranckx R., Osterhaus A.: A new European perspective of influenza pandemic planning with a particular focus on the role of mammalian cell culture vaccines. Poster prezentován na „Influenza Vaccines for the World“, 24.-26.5.2004, Lisabon, Portugalsko.
22. Kyncl J, Kriz B. Surveillance of acute respiratory infections in the Czech Republic and in Europe – example of an early warning system. In: Kocik J, Janiak MK, Negut M (eds), Preparedness against bioterrorism and re-emerging infectious diseases. Amsterdam: IOS Press, 2004, s. 40-44.
23. Havlíčková M., Otavová M., Kyncl J., Táčner J., Brynýchová D., Limberková R., Vodičková I.: Surveillance akutních respiračních infekcí (ARI) v České republice v sezóně 2003/2004. Zprávy CEM (SZÚ, Praha), 2004, 13, č. 6, s. 259-264.

24. Kynčl J., Paget WJ., Havlíčková M., Kříž B.: Harmonisation of the acute respiratory infection reporting system in the Czech Republic with the European community network. *Eurosurveillance Monthly*, 2005, 10, č. 3, s. 5-6.
25. Kynčl J., Procházka B., Goddard N.L., Havlíčková M., Částková J., Otavová M., Kříž B.: A study of excess mortality during influenza epidemics in the Czech Republic, 1982-2000. *European Journal of Epidemiology*, 2005, 20, č. 4, s. 365 - 371 (**IF 2003: 0.972**)
26. Havlíčková M., Otavová M., Kynčl J.: Surveillance akutních respiračních infekcí (ARI) v České republice v sezóně 2004/2005. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*, 2005, 14, č. 6, s. 286-293
27. Oxford J.S., Manuguerra C., Kistner O., Linde A., Kunze M., Lange W., Schweiger B., Spala G., Rebelo de Andrade H., Pérez Broňa P.R., Beytout J., Brydak L., Caraffa de Stefano D., Hunghes O., Kynčl J., Montomoli E., Gil de Miguel A., Vranckx R., Osterhaus A.: A new European perspective of influenza pandemic planning with a particular focus on the role of mammalian cell culture vaccines. *Vaccine* 2005, in press (**IF 2003: 3,007**)
28. Kynčl J., Havlíčková M., Otavová M., Wallenfels J., Vít M. Pilot study of influenza-like illness (ILI) reporting system in the Czech Republic. The Second European Influenza Conference, St.-Julians, Malta, 11-14 September 2005, poster, sborník abstrakt s. 69.

11. POUŽITÁ LITERATURA

- (1) Smith ChB. Upper respiratory tract infections. In: Root RK, Waldvogel F, Corey L, Stamm WE, editors. Clinical Infectious Diseases: a practical approach. Oxford University Press, 1999: 513-522.
- (2) Monto AS, Lehmann D. Acute respiratory infections (ARI) in children: prospects for prevention. *Vaccine* 1998; 16(16):1582-1588.
- (3) Smith ChB. Influenza viruses. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, et al., editors. Infectious Diseases, second edition. W.B. Saunders Company, 1998: 2120-2125.
- (4) Glezen WP. The common cold. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, et al., editors. Infectious Diseases, second edition. W.B. Saunders Company, 1998: 548-552.
- (5) Douglas RM. Respiratory tract infections as a public health challenge. *Clin Infect Dis* 1999; 28(2):192-194.
- (6) Chin J, ed. Control of Communicable Diseases Manual, 17. edition. Washington: American Public Health Association, 2000: 1-624.
- (7) Menec VH, Black C, MacWilliam L, Aoki FY. The impact of influenza-associated respiratory illnesses on hospitalizations, physician visits, emergency room visits, and mortality. *Can J Public Health* 2003; 94(1):59-63.
- (8) Graham NMH. The epidemiology of acute respiratory infections. In: Nelson KE, Williams CM, Graham NMH, editors. Infectious disease epidemiology. Theory and practice. Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen Publishers, 2001: 439-476.
- (9) Hak E, Verheij TJM, van Essen GA, Lafeber AB, Grobbee DE, Hoes AW. Prognostic factors for influenza-associated hospitalization and death during an epidemic. *Epidemiol Infect* 2001; 126:261-268.
- (10) Helcl J, Švandová E, Tůmová B, et al. Surveillance akutních respiračních onemocnění v České republice. *Praktický lékař* 1994; 74(suppl):6-8.
- (11) Kříž J. Role Státního zdravotního ústavu v monitorování respiračních nemocí. *Praktický lékař* 1995; 75(suppl 3):9-12.
- (12) CDC. Prevention and control of influenza: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 2004; 53(Early Release):1-40.
- (13) Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, Brammer L, Cox N, Anderson LJ et al. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA* 2003; 289(2):179-186.

- (14) Cram P, Blitz SG, Monto A, Fendrick AM. Influenza. Cost of illness and considerations in the economic evaluation of new and emerging therapies. *Pharmacoeconomics* 2001; 19(3):223-230.
- (15) Cox NJ, Subbarao K. Global epidemiology of influenza: past and present. *Annu Rev Med* 2000; 51:407-421.
- (16) Neuzil KM, Hohlbein C, Zhu Y. Illness among schoolchildren during influenza season: effect on school absenteeism, parental absenteeism from work, and secondary illness in families. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156(10):986-991.
- (17) Couch RB. Influenza: prospects for control. *Ann Intern Med* 2000; 133(12):992-998.
- (18) Nichol KL. Complications of influenza and benefits of vaccination. *Vaccine* 1999; 17:S47-S52.
- (19) Voordouw BCG, van der Linden PD, Simonian S, van der Lei J, Sturkenboom MCJM, Stricker BHC. Influenza vaccination in community-dwelling elderly: impact on mortality and influenza-associated morbidity. *Arch Intern Med* 2003; 163:1089-1094.
- (20) Nichol KL. The efficacy, effectiveness and cost-effectiveness of inactivated influenza virus vaccines. *Vaccine* 2003; 21:1769-1775.
- (21) Nichol KL, Mallon KP, Mendelman PM. Cost benefit of influenza vaccination in healthy, working adults: an economic analysis based on the results of a clinical trial of trivalent live attenuated influenza virus vaccine. *Vaccine* 2003; 21:2207-2217.
- (22) Stöhr K. The global agenda on influenza surveillance and control. *Vaccine* 2003; 21:1744-1748.
- (23) Osterholm MT. Preparing for the next pandemic. *N Engl J Med* 2005; 352:1839-1842.
- (24) Monto AS, Sullivan KM. Acute respiratory illness in the community. Frequency of illness and the agents involved. *Epidemiol Infect* 1993; 110:145-160.
- (25) Zambon MC, Stockton JD, Clewley JP, Fleming DM. Contribution of influenza and respiratory syncytial virus to community cases of influenza-like illness: an observational study. *Lancet* 2001; 358(9291):1410-1416.
- (26) Monto AS. Viral respiratory infections in the community: epidemiology, agents and interventions. *American Journal of Medicine* 1995; 99(suppl 6B):24S-27S.
- (27) Graham NMH. The epidemiology of acute respiratory infections in children and adults: a global perspective. *Epidemiol Rev* 1990; 12:149-178.

- (28) Pope CA III. Air pollution and health – good news and bad. *N Engl J Med* 2004; 351:1132-1134.
- (29) Pope CA III. Respiratory disease associated with community air pollution and a steel mill, Utah Valley. *Am J Public Health* 1989; 79:623-628.
- (30) Lipfert FW, Morris SC. Temporal and spatial relations between age specific mortality and ambient air quality in the United States: regression results for counties, 1960-97. *Occup Environ Med* 2002; 59(3):156-174.
- (31) Bell ML, Davis DL. Reassessment of the lethal London fog of 1952: novel indicators of acute and chronic consequences of acute exposure to air pollution. *Environ Health Perspect* 2001; 109(Suppl 3):389-394.
- (32) Dockery DW, Pope CA III, Xu X, Spengler JD, Ware JH, Fay ME et al. An association between air pollution and mortality in six U.S. cities. *N Engl J Med* 1993; 329(24):1753-1759.
- (33) Hales S, Salmond C, Town GI, Kjellstrom T, Woodward A. Daily mortality in relation to weather and air pollution in Christchurch, New Zealand. *Aust N Z J Public Health* 2000; 24(1):89-91.
- (34) Braga ALF, Zanobetti A, Schwartz J. Do respiratory epidemics confound the association between air pollution and daily deaths? *Eur Respir J* 2000; 16(4):723-728.
- (35) Gouveia N, Fletcher T. Time series analysis of air pollution and mortality: effects by cause, age and socioeconomic status. *J Epidemiol Community Health* 2000; 54(10):750-755.
- (36) Hoek G, Brunekreef B, Goldbohm S, Fischer P, van den Brandt PA. Association between mortality and indicators of traffic-related air pollution in the Netherlands: a cohort study. *Lancet* 2002; 360:1203-1209.
- (37) Kriz P, Bobak M, Kriz B. Parental smoking, socioeconomic factors, and risk of invasive meningococcal disease in children: a population based case-control study. *Arch Dis Child* 2000; 83:117-121.
- (38) Aylin P, Morris S, Wakefield J, Grossinho A, Jarup L, Elliott P. Temperature, housing, deprivation and their relationship to excess winter mortality in Great Britain, 1986-1996. *Int J Epidemiol* 2001; 30:1100-1108.
- (39) Keatinge WR. Winter mortality and its causes. *Int J Circumpolar Health* 2002; 61(4):292-299.
- (40) Davey ML, Reid D. Relationship of air temperature to outbreaks of influenza. *Brit J prev soc Med* 1972; 26:28-32.
- (41) MacFarlane A. Daily mortality and environment in English conurbations. 1: air pollution, low temperature, and influenza in Greater London. *Brit J prev soc Med* 1977; 31:54-61.

- (42) Havlík J, Beran J. Chřipka. Klinický obraz, prevence, léčba. Praha: Maxdorf, 2002: 1-147.
- (43) Luk J, Gross P, Thompson WW. Observations on mortality during the 1918 influenza pandemic. *Clin Infect Dis* 2001; 33(8):1375-1378.
- (44) Steinhoff MC. Epidemiology and prevention of influenza. In: Nelson KE, Williams CM, Graham NMH, editors. Infectious disease epidemiology. Theory and practice. Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen Publishers, 2001: 477-494.
- (45) Reid AH, Fanning TG, Janczewski TA, Lourens RM, Taubenberger JK. Novel origin of the 1918 pandemic influenza virus nucleoprotein gene. *J Virol* 2004; 78(22):12462-12470.
- (46) Sovinova O, Tumova B, Pouska F, Nemec J. Isolation of a virus causing respiratory disease in horses. *Acta Virol* 1958; 2:52-61.
- (47) Pelc H jr. Chřipka. In: Pelc H jr, editor. Zdravotní stav obyvatelstva Československé republiky v jejím prvním desetiletí. Praha: Státní tiskárna, 1929: 107-112.
- (48) Pelc H. Chřipka. In: Pelc H, editor. Zpráva o poměrech a zařízeních zdravotních v Království českém za leta 1893-95. Praha: c. k. místodržitelství, 1897: 113-116.
- (49) Fouchier RAM, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 2005; 79(5):2814-2822.
- (50) Kynčl J, Marešová V, Příborský J, Zicha J, Žampachová E. Zásady diagnostiky a terapie chřipky. Praha: Maxdorf, 2000: 1-19.
- (51) Nguyen-Van-Tam JS, Hampson AW. The epidemiology and clinical impact of pandemic influenza. *Vaccine* 2003; 21:1762-1768.
- (52) Oxford JS, Lambkin R, Sefton A, Daniels R, Elliot A, Brown R et al. A hypothesis: the conjunction of soldiers, gas, pigs, ducks, geese and horses in Northern France during the Great War provided the conditions for the emergence of the "Spanish" influenza pandemic of 1918-1919. *Vaccine* 2005; 23:940-945.
- (53) Oxford JS. Influenza A pandemics of the 20th century with special reference to 1918: virology, pathology and epidemiology. *Rev Med Virol* 2000; 10:119-133.
- (54) Simonsen L, Clarke MJ, Schonberger LB, Arden NH, Cox NJ, Fukuda K. Pandemic versus epidemic influenza mortality: a pattern of changing age distribution. *J Infect Dis* 1998; 178:53-60.

- (55) Jensen ES, Lundbye-Christensen S, Samuelsson S, Sorensen HT, Schonheyder HC. A 20-year ecological study of the temporal association between influenza and meningococcal disease. *Eur J Epidemiol* 2004; 19:181-187.
- (56) Fraňková V. Čeled' Orthomyxoviridae. In: Bednář M, Fraňková V, Schindler J, Souček A, Vávra J, editors. Lékařská mikrobiologie. Praha: Marvil, 1996: 421-427.
- (57) Alling DW, Blackwelder WC, Stuart-Harris CH. A study of excess mortality during influenza epidemics in the United States, 1968-1976. *Am J Epidemiol* 1981; 113:30-43.
- (58) Havlík J. Hemofilové nákazy. In: Havlík J, editor. Infektologie. Praha: Avicenum, 1990: 162-164.
- (59) Fleming DM, Zambon MC, Bartelds AIM, Jong JC. The duration and magnitude of influenza epidemics: a study of surveillance data from sentinel general practices in England, Wales and the Netherlands. *Eur J Epidemiol* 1999; 15:467-473.
- (60) European Influenza Surveillance Scheme. Annual report: 2003-2004 influenza season. Utrecht, the Netherlands: NIVEL, 2005: 1-52.
- (61) Chew FT, Doraisingham S, Ling AE, Kumarasinghe G, Lee BW. Seasonal trends of viral respiratory tract infections in the tropics. *Epidemiol Infect* 1998; 121:121-128.
- (62) Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiological Reviews* 1992; 56(1):152-179.
- (63) Viboud C, Boelle PY, Pakdaman K, Carrat F, Valleron AJ, Flahault A. Influenza epidemics in the United States, France, and Australia, 1972-1997. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(1):32-39.
- (64) Viboud C, Tam T, Fleming DM, Miller MA, Simonsen L. An unusually deadly influenza epidemic: Comparison of the 1951 epidemic in England and Wales, Canada and the United States. *Emerg Infect Dis* 2005;in press.
- (65) Paget WJ, Meerhoff TJ, Goddard N, on behalf of EIIS. Mild to moderate influenza activity in Europe and the detection of novel A(H1N2) and B viruses during the winter of 2001-02. *Eurosurveillance* 2002; 7(11):147-157.
- (66) Nichol KL, Nordin J, Mullooly J, Lask R, Fillbrandt K, Iwane M. Influenza vaccination and reduction in hospitalizations for cardiac disease and stroke among the elderly. *N Engl J Med* 2003; 348:1322-1332.
- (67) van Essen GA, Palache AM, Forleo E, Fedson DS. Influenza vaccination in 2000: recommendations and vaccine use in 50 developed and rapidly developing countries. *Vaccine* 2003; 21:1780-1785.

- (68) Meltzer MI, Neuzil KM, Griffin MR, Fukuda K. An economic analysis of annual influenza vaccination of children. *Vaccine* 2005; 23(8):1004-1014.
- (69) Turner DA, Wailoo AJ, Cooper NJ, Sutton AJ, Abrams KR, Nicholson KG. The cost-effectiveness of influenza vaccination of healthy adults 50-64 years of age. *Vaccine* 2005; in press(Epub ahead of print).
- (70) Monto AS. The role of antivirals in the control of influenza. *Vaccine* 2003; 21:1796-1800.
- (71) Beyer WEP, Palache AM, Osterhaus ADME. Comparison of serology and reactogenicity between influenza subunit vaccines and whole virus or split vaccines: a review and meta-analysis of literature. *Clin Drug Invest* 1998; 15(1):1-12.
- (72) Kistner O, Barrett PN, Mundt W, Reiter M, Schober-Bendixen S, Eder G et al. A novel mammalian cell (Vero) derived influenza virus vaccine: development, characterization and industrial scale production. *Wien Klin Wochenschr* 1999; 111(5):207-214.
- (73) Palache AM, Scheepers HSJ, de Regt V, van Ewijk P, Baljet M, Brands R et al. Safety, reactogenicity and immunogenicity of Madin Darby Canine Kidney cell-derived inactivated influenza subunit vaccine. A meta-analysis of clinical studies. *Dev Biol Stand* 1999; 98:115-125.
- (74) Ahmed F, Singleton JA, Franks AL. Influenza vaccination for healthy young adults. *N Engl J Med* 2001; 345(21):1543-1547.
- (75) Uhnoo I, Linde A, Pauksens K, Lindberg A, Eriksson M, Norrby R et al. Treatment and prevention of influenza: Swedish recommendations. *Scand J Infect Dis* 2003; 35:3-11.
- (76) Neuzil KM, Dupont WD, Wright PF, Edwards KM. Efficacy of inactivated and cold-adapted vaccines against influenza A infection, 1985 to 1990: the pediatric experience. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20:733-740.
- (77) Negri E, Colombo C, Giordano L, Groth N, Apolone G, La Vecchia C. Influenza vaccine in healthy children: a meta-analysis. *Vaccine* 2005; 23:2851-2861.
- (78) Nichol KL. Cost-benefit analysis of a strategy to vaccinate healthy working adults against influenza. *Arch Intern Med* 2001; 161:749-759.
- (79) Wilde JA, McMillan JA, Serwint J, Butta J, ORiordan MA, Steinhoff MC. Effectiveness of influenza vaccine in health care professionals. A randomized trial. *JAMA* 1999; 281(10):908-913.
- (80) Demicheli V, Jefferson T, Rivetti D, Deeks J. Prevention and early treatment of influenza in healthy adults. *Vaccine* 2000; 18:957-1030.

- (81) Chlíbek R, Beran J, Špliňo M. Efektivita očkování proti chřipce u zdravých dospělých osob - čtyřnásobný pokles nemocnosti na chřipku během jedné chřipkové sezóny. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2002; 51(2):47-51.
- (82) Bridges CB, Thompson WW, Meltzer MI, Reeve GR, Talamonti WJ, Cox NJ et al. Effectiveness and cost-benefit of influenza vaccination of healthy working adults: a randomized controlled trial. *JAMA* 2000; 284(13):1655-1663.
- (83) Monto AS, Hornbuckle K, Ohmit SE. Influenza vaccine effectiveness among elderly nursing home residents: a cohort study. *Am J Epidemiol* 2001; 154(2):155-160.
- (84) Gross PA, Hermogenes AW, Sacks HS, Lau J, Levandoeski RA. The efficacy of influenza vaccine in elderly persons: a meta-analysis and review of the literature. *Ann Intern Med* 1995; 123:518-527.
- (85) Fedson DS. Preparing for pandemic vaccination: an international policy agenda for vaccine development. *J Public Health Policy* 2005; 26(1):4-29.
- (86) Palmer A. Drug review - Oseltamivir. *Drugs in Context* 2004; 1(9):329-346.
- (87) Cooper NJ, Sutton AJ, Abrams KR, Wailoo A, Turner DA, Nicholson KG. Effectiveness of neuraminidase inhibitors in treatment and prevention of influenza A and B: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials. *BMJ* 2003; 326(7401):1235.
- (88) Monto AS, Robinson DP, Herlocher ML, Hinson JM Jr, Elliott MJ, Crisp A. Zanamivir in the prevention of influenza among healthy adults: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999; 282(1):31-35.
- (89) Monto AS, Fleming DM, Henry D, de Groot R, Makela M, Klein T et al. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza A and B virus infections. *J Infect Dis* 1999; 180(2):254-261.
- (90) Ward P, Small I, Smith J, Suter P, Dutkowski R. Oseltamivir (Tamiflu) and its potential for use in the event of an influenza pandemic. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005; 55(Suppl. S1):i5-i21.
- (91) Kalvová J, Moldan B. Klimatický systém. In: Kalvová J, Moldan B, editors. Klima a jeho změna v důsledku emisí skleníkových plynů. Praha: Karolinum, 1996: 1-16.
- (92) Český hydrometeorologický ústav. Praha - Klementinum: stručná historie meteorologických pozorování. <http://www.chmi.cz/meteo/ok/klemhist.html>. Citováno 21.7.2005.
- (93) Roubalová K (editor). Doporučené metody ve virologické diagnostice. *Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica* 2000; (1):1-56.

- (94) Madjid M, Aboshady I, Awan I, Litovsky S, Casscells SW. Influenza and cardiovascular disease: is there a causal relationship? *Tex Heart Inst J* 2004; 31(1):4-13.
- (95) Glezen WP, Payne AA, Snyder DN, Downs TD. Mortality and influenza. *J Infect Dis* 1982; 146(3):313-320.
- (96) Donaldson GC, Keatinge WR. Excess winter mortality: influenza or cold stress? Observational study. *BMJ* 2002; 324:89-90.
- (97) Fleming DM, Cross KW, Watson JM, Verlander NQ. Excess winter mortality. Method of calculating mortality attributed to influenza is disputed. *BMJ* 2002; 324:1337.
- (98) Tillett HE, Smith JWG, Clifford RE. Excess morbidity and mortality associated with influenza in England and Wales. *Lancet* 1980;793-795.
- (99) Clifford RE, Smith JWG, Tillett HE, Wherry PJ. Excess mortality associated with influenza in England and Wales. *Int J Epidemiol* 1977; 6(2):115-128.
- (100) Fleming DM, Cross KW, Crombie DL, Lancashire RJ. Respiratory illness and mortality in England and Wales: A study of the relationships between weekly data for the incidence of respiratory disease presenting to general practitioners, and registered deaths. *Eur J Epidemiol* 1993; 9(6):571-576.
- (101) Reichert TA, Sharma A. The seasonality of human mortality: the role of influenza. In: Osterhaus A, Cox N, Hampson A, editors. Options for the Control of Influenza IV. The Netherlands: Excerpta Medica, Elsevier Science B. V., 2001: 95-101.
- (102) Assaad F, Cockburn WC, Sundaresab TK. Use of excess mortality from respiratory diseases in the study of influenza. *Bull WHO* 1973; 49:219-233.
- (103) Fleming DM. The contribution of influenza to combined acute respiratory infections, hospital admissions, and deaths in winter. *Commun Dis Public Health* 2000; 3(1):32-38.
- (104) Eickhoff TC, Sherman IL, Serfling RE. Observations on excess mortality associated with epidemic influenza. *JAMA* 1961; 176(9):776-782.
- (105) Tillett HE, Smith JW, Gooch CD. Excess deaths attributable to influenza in England and Wales: age at death and certified cause. *Int J Epidemiol* 1983; 12(3):344-352.
- (106) Choi K, Thacker SB. An evaluation of influenza mortality surveillance, 1962-1979. I. Time series forecasts of expected pneumonia and influenza deaths. *Am J Epidemiol* 1981; 113(3):215-226.
- (107) Serfling RE. Methods for current statistical analysis of excess pneumonia-influenza deaths. *Publ Hlth Rep* 1963; 78(6):494-506.

- (108) Simonsen L, Clarke MJ, Williamson GD, Stroup DF, Arden NH, Schonberger LB. The impact of influenza epidemics on mortality: introducing a severity index. *Am J Public Health* 1997; 87:1944-1950.
- (109) Tumova B, Heinz F, Syrucek L, Bruckova M, Fedova D, et al. Occurrence and aetiology of acute respiratory diseases: results of a longterm surveillance programme. *Acta Virol* 1988; 33:50-62.
- (110) Havlíčková M, Otavová M, Kyncl J. Surveillance akutních respiračních infekcí (ARI) v České republice v sezóně 2004/2005. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2005; 14(6):286-293.
- (111) Kyncl J, Paget WJ, Havlickova M, Kriz B. Harmonization of the acute respiratory infection reporting system in the Czech Republic with the European community networks. *Eurosurveillance Monthly* 2005; 10(3):5-6.
- (112) Kyselý J, Kříž B. Vysoké letní teploty a úmrtnost v ČR v letech 1982-2000. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2003; 52(3):105-116.
- (113) Kazmarová H, a kol. Dopady klimatické změny vyvolané zesílením skleníkového efektu na lidské zdraví v ČR. In: Kalvová J, Kašpárek L, Janouš D, Žalud Z, Kazmarová H, editors. Scénáře změny klimatu na území České republiky a odhady dopadů klimatické změny na hydrologický režim, sektor zemědělství, sektor lesního hospodářství a na lidské zdraví v ČR. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 2002: 126-141.
- (114) Fiala J, Bretschneider B, Keder J, Machálek P, Sládeček J. State and trends of environmental components: The Air. In: Lizner M, editor. Statistical environmental yearbook of the Czech Republic, 2001. Prague: Ministerstvo životního prostředí ČR, 2001: 129-167.
- (115) Peters A, Skorkovsky J, Kotesovec F, Brynda J, Spix C, Wichmann HE et al. Associations between mortality and air pollution in Central Europe. *Environ Health Perspect* 2000; 108(4):283-287.
- (116) Heinrich J, Hoelscher B, Frye C, Meyer I, Pitz M, Cyrys J et al. Improved air quality in reunified Germany and decreases in respiratory symptoms. *Epidemiology* 2002; 13(4):394-401.
- (117) Stewart S, McIntyre K, Capewell S, McMurray J JV. Heart failure in a cold climate: seasonal variation in heart failure-related morbidity and mortality. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(5):760-766.
- (118) Donaldson GC, Ermakov SP, Komarov YM, McDonald CP, Keatinge WR. Cold related mortalities and protection against cold in Yakutsk, eastern Siberia: observation and interview study. *BMJ* 1998; 317:978-982.
- (119) Hajat S, Haines A. Associations of cold temperatures with GP consultations for respiratory and cardiovascular disease amongst the elderly in London. *Int J Epidemiol* 2002; 31:825-830.

- (120) Holland W. Cold temperatures and consultations for respiratory and cardiovascular disease. *Int J Epidemiol* 2002; 31(6):1272-1273.
- (121) Joseph C, Goddard N. Influenza vaccine uptake in the elderly: results from a rapid assessment of the effectiveness of new government policy in England for the winters 2000/2001 and 2001/2002. *Vaccine* 2003; 21:1137-1148.
- (122) Fedson DS. The macroepidemiology of influenza vaccination in 56 countries, 1997-2003. *Vaccine* 2005; in press.
- (123) Goddard NL, Joseph CA, Watson JM, Ellis JS, Zambon MC. Three years of low influenza activity--no reason for complacency. *Commun Dis Public Health* 2003; 6(2):128-132.

12. IMPAKTOVANÉ PRÁCE AUTORA V SOUVISLOSTI S DIZERTACÍ

European Journal of Epidemiology (2005) 20: 365–371
DOI 10.1007/s10654-005-1067-y

© Springer 2005

INFECTIOUS DISEASES EPIDEMIOLOGY

A study of excess mortality during influenza epidemics in the Czech Republic, 1982–2000

J. Kyncl¹, B. Prochazka², N.L. Goddard³, M. Havlickova, J. Castkova, M. Otavova & B. Kriz

¹Centre of Epidemiology and Microbiology; ²Department of Biostatistics, National Institute of Public Health, Prague, Czech Republic; ³Communicable Disease Surveillance Centre, Health Protection Agency, London, UK

Accepted in revised form 24 January 2005

Abstract. Influenza related mortality rates have been established in many countries; nevertheless, studies focusing on the Central European population have been rare to date. We assess mortality attributable to influenza by comparing all cause mortality and mortality due to diseases of the circulatory system during influenza epidemic and non-epidemic periods, as defined by acute respiratory infection surveillance data. Data on total mortality, mortality due to diseases of the circulatory system and surveillance data for influenza and other respiratory infections were used in a general linear model with a logarithmic link for dependence of left censored mortality data over time, and week as a categorical factor. Results of the

analysis show statistically significant ($p < 0.001$) differences in excess mortality rates between influenza epidemic and non-epidemic periods in the Czech Republic between 1982 and 2000. We estimate that 2.17% of all cause mortality, and 2.57% of mortality due to diseases of the circulatory system throughout the study period was attributable to influenza, with an estimated annual average of 2661 and 1752 deaths respectively. The highest numbers of deaths were reported during seasons when influenza A/H3N2 was the predominant circulating strain. Improving vaccination coverage against influenza is considered to be the primary strategy for prevention of influenza associated mortality.

Key words: Epidemic, Influenza, Mortality

Introduction

Influenza is a highly infectious disease causing annual epidemics that are highly unpredictable in both timing and magnitude. In contrast to most other Acute Respiratory Infections (ARI) of viral origin with similar clinical symptoms, influenza is usually more severe, and is commonly associated with complications [1–3]. Influenza may cause death either directly (due to a primary complication caused by influenza virus) or indirectly (due to a secondary non-influenza complication either pulmonary or non-pulmonary in nature, exacerbated by the influenza infection). As a consequence, the burden of illness associated with influenza virus infection is frequently underestimated.

The highest rates of mortality from influenza frequently occur in the elderly [4], although the age groups affected in any given season will depend on the sub-type of the circulating strain. Incidence of influenza is usually highest among school aged children and young adults who experience infection with a strain to which they have little or no prior immu-

nity. Vaccination against influenza remains the primary preventive measure: its efficacy and cost-effectiveness have been demonstrated repeatedly [5, 6]. Nonetheless, rates of influenza vaccination remain low, especially in high risk populations [7]. Administration of antiviral agents, such as neuraminidase inhibitors, remains primarily supportive [8].

Surveillance of influenza and other viral ARI is well established in the Czech Republic: indeed in 1956 the former Czechoslovak influenza centre in Prague first isolated the equine influenza strain (A-equini/Praha/56) [9]. Surveillance methodology for ARI has been described previously [10–12]. Despite this, no formal assessment of influenza associated mortality in the Czech Republic has been undertaken in recent years, with a WHO study of Czech data between 1963 and 1973 the only previously published data [13].

This study aims to assess the association between mortality and periods of influenza virus circulation, and to determine the excess mortality directly attributable to influenza during periods of epidemic activity.

Methods

Daily numbers of deaths in the Czech Republic were obtained from the Institute of Health Information and Statistics in Prague. Data on all cause mortality (2,197,654 deaths) and mortality due to diseases of the circulatory system (1,225,088 deaths) (as defined by the International Classification of Diseases, Ninth Revision (ICD-9), codes 390–459 in 1982–1993, and Tenth Revision (ICD-10), codes I 00–I 99, in 1994–2000) were obtained for influenza seasons 1982/1983–1999/2000 (week 36–35 following year, as defined by the European Influenza Surveillance Scheme (EISS)).

Weekly surveillance data on ARI (combined upper and lower respiratory tract infection, including influenza) were obtained from the National Institute of Public Health (NIPH), Prague. These data represent ARI morbidity in the Czech Republic (rates per 100,000 population) collected from 2230 general practitioners and 1240 paediatricians covering a population of approximately 5 million people (50% of the population).

Weeks were defined as influenza epidemic weeks if ARI morbidity rates exceeded the epidemic threshold (a floating smoothed baseline calculated for each week, defined as the upper tolerance bound of mean 'non-epidemic' weekly ARI incidence during 10 previous seasons) and the NIPH National Influenza Reference Centre reported influenza virus detection from community-derived specimens at the same time.

Daily mortality data were aggregated to provide weekly numbers of deaths in the same format as ARI surveillance data. Adjustment for the week length was not required as the ARI reporting week (Friday through Thursday) is always 7 days, even between the end of one year and the beginning of the following one.

SPSS version 12.0 (Chicago, IL, USA) and R version 1.9.1 with package SURVIVAL (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) were used for statistical analysis. Analysis was based on the

assumption that outside influenza epidemic periods the number of deaths follows a Poisson distribution with a time trend and a seasonal component.

The model aims to estimate the week dependent number of deaths irrespective of the epidemic period (i.e. estimates the seasonal fraction). Data are treated as left censored as influenza epidemic periods will only increase the number of deaths; during epidemic periods the seasonal fraction is camouflaged by deaths attributable to the epidemic. The weekly number of deaths (DECEASED) depends on seasonality – number of week (WEEK) and size of population age group (A0 age less than 1 year, A1 1–4 years, A2 5–14 years, A3 15–24 years, A4 25–59 years, A5 60–69 years, A6 70–79 years and A7 80+ years). WEEK is treated as a categorical variable. As the distribution of deaths nearly follows a Poisson distribution, the Gaussian distribution of logarithm of DECEASED was used in the model.

The model is constructed in R-SURVIVAL using the following command:

```
Survreg(Surv(log(DECEASED)), EPIDEMIC,
type= "left") ~
  as.factor(WEEK)+A0+A1+A2+A3+A4+A5+A6+A7,
dist= "gaussian")
```

To take into account changes in population structure over the study period, data were adjusted using population figures (A0, ..., A7) for 1991, the midpoint in the study period. Adjustment was made by using estimated coefficients of the constructed model. The adjusted number of deaths were obtained by removing the difference between the current year and 1991 caused by the size of age groups, and estimated in the model.

Results

Weekly rates of ARI and all cause mortality between 1982/1983 and 1999/2000 are shown in Figure 1. Mortality can be seen to peak almost simultaneously

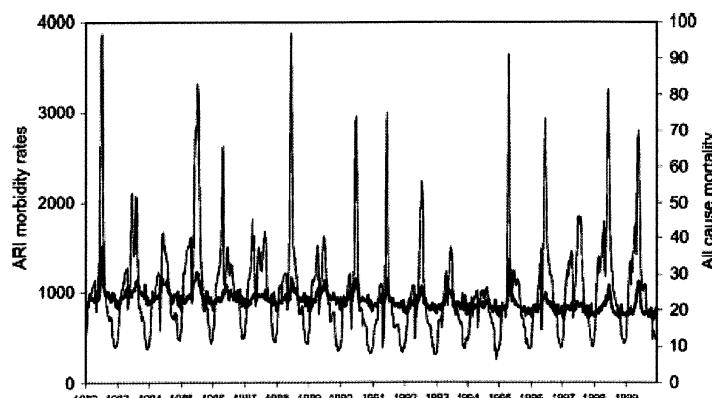


Figure 1. Acute respiratory infection (thin line) and all cause mortality (bold line) per 100,000 population, by week, season 1982/1983–1999/2000. Note: Year marked as first week of influenza season (week 36).

with clinical illness incidence; the mean delay between the peaks of ARI and mortality is 1.14 week (median 1 week).

Figure 2 shows adjusted weekly death numbers for the period 1982/1983–1999/2000 and the model estimates. During epidemic periods (162 weeks), 47.5% of observations were above the tolerance level, whilst outside of the epidemic period (777 weeks) only 4.6% of observations were above the tolerance level. The median of deviations between the actual and estimated number of deaths is negligible at 0.8 (95% CI: (-0.4; 12.2)) for the non-epidemic period, and 188.2 (95% CI: (178.6; 283.6)) for the epidemic period. The residuals between the actual and estimated number of deaths for non-epidemic and epidemic weeks are shown in Figure 3. Residuals in the non-epidemic weeks (which describe the quality of model) are non-significant, whilst residuals in the influenza epidemic period (which describe additional epidemic mortality) differ statistically significantly from zero ($p < 0.001$).

Similar results were found for deaths from diseases of the circulatory system, which account for 55.7% of all deaths during the study period. The median of deviations between the actual and estimated number of deaths due to diseases of the circulatory system is 2.4 (95% CI: (-0.4; 10.6)) for the non-epidemic period, and 126.0 (95% CI: (120.4; 196.4)) for the epidemic period, $p < 0.001$.

Table 1 shows the characteristics of influenza seasons in the Czech Republic between 1982 and 2000. The number of excess deaths attributed to influenza

(the difference between the observed and expected annual number of deaths in the absence of influenza activity) are shown. We estimate an annual mean of 2661 (25.99 per 100,000 population) and 1752 (17.11 per 100,000 population) influenza-associated deaths due to all causes and diseases of the circulatory system respectively, equivalent to 2.17% and 2.57% of all deaths due to all causes and all deaths due to diseases of circulatory system respectively throughout the study period, however the results for different years vary widely depending on the magnitude of influenza activity in any given year.

Table 1 also shows the number of excess deaths during influenza epidemic periods. Data represent the number of deaths closely associated with influenza epidemic periods, i.e. mortality excess above the upper one-sided 95% tolerance level of the non-epidemic period in the corresponding week from the model. The excess all cause mortality during periods where influenza activity exceeds the epidemic threshold represents an average of 1125 (0.92%) deaths per year (range 0–4259 deaths).

Discussion

We estimate an average of 2661 (2.17%) and 1752 (2.57%) deaths due to all causes, and deaths due to diseases of circulatory system respectively can be attributed to influenza virus activity between 1982/1983 and 1999/2000 in the Czech Republic. During periods within the influenza season where activity

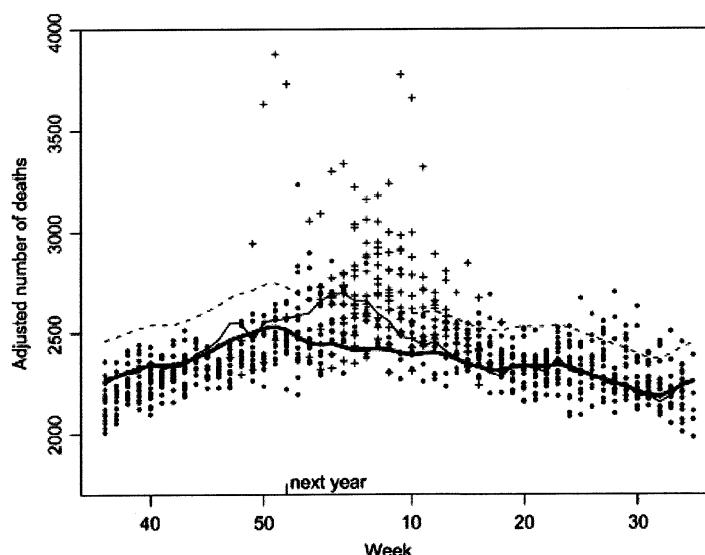


Figure 2. Total number of deaths per week (adjusted for population) showing model estimates. Note: Observations made during influenza epidemic periods = crosses; observations during non-epidemic periods = dots. Bold line represents modeled mortality when influenza is not occurring and has similarities with seasonal component. Thin line is the modeled weekly mortality with influenza activity and seasonal component. The upper one-sided 95% tolerance level is shown as a thin dashed line. The calculated weekly estimate was smoothed out by Gaussian ($N(0,1)$) kernel estimate.

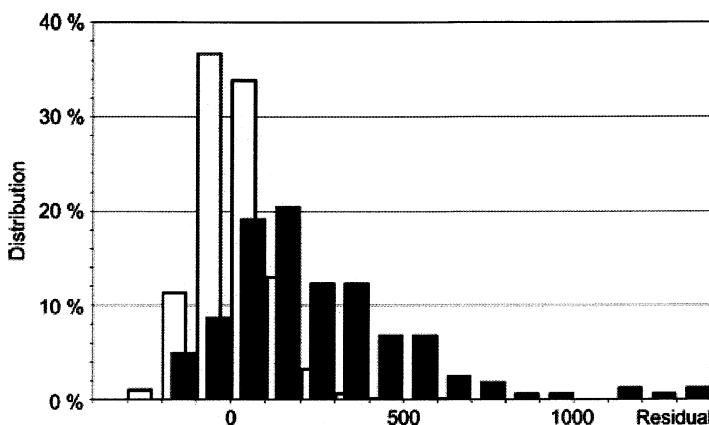


Figure 3. Bar chart of residual between observed and expected deaths during influenza epidemic (black bars) and non-epidemic (white bars) periods.

exceeds the epidemic threshold, an average of 1125 (0.92%) deaths due to all causes occur.

Surveillance of ARI in the Czech Republic comprises of integrated clinical and virological surveillance incorporating a range of respiratory pathogens (influenza A&B, respiratory syncytial virus, adenovirus, parainfluenza and *Mycoplasma pneumoniae*). In the Czech Republic, like in many other countries, death certification statistics record only the primary cause of death. Death certification data may therefore result in an underestimate of the number of deaths each year due to infectious diseases such as influenza, where secondary complications rather than the primary influenza virus result in death [14, 15]. The use of statistical modelling to estimate excess mortality provides an important insight into the true impact of infectious diseases such as influenza.

We aim to assess of the contribution of influenza virus activity to rates of all cause mortality and deaths due to diseases of the circulatory system. The additional calculation of excess mortality during periods when influenza virus activity exceeds the epidemic threshold increases the likelihood that excess deaths are specifically attributable to influenza, as this is likely to be the predominant circulating virus during this time. This represents a conservative estimate (e.g. the lowest possible excess) of the mortality as a consequence of influenza.

This study focuses on all cause deaths and deaths due to diseases of circulatory system rather than pneumonia and influenza (P&I) deaths, which are frequently used to estimate the impact of influenza in many other countries [16, 17]. In the Czech Republic, deaths due to pneumonia were predominantly coded as cardiovascular due to death certification practices (Dr Eva Svandova, personal communication). Consequently, using P&I coded deaths would significantly underestimate the true extent of respiratory associated mortality.

In this study we used techniques based on Serfling's approach described previously [16] to model mortality using point-to-point estimates. Secular trend was removed using classical ANOVA methods. The censoring technique takes into account periods when epidemic levels of activity occur whilst retaining the maximum information contained in data.

Excess mortality is not only a winter phenomenon; summer excess mortality may be caused by heat stress [18]. Whilst death rates attributed to heat stress are generally lower than compared to influenza, two heat-related peaks occurred over several weeks in summer 1994 in the Czech Republic (Figure 1).

In winter, air pollution can contribute to excess mortality. This analysis does not adjust for the contribution of air pollution as air quality data in the Czech Republic are not available prior to 1993 in a standardized data format enabling international comparison. Moreover, air quality in the Czech Republic has significantly improved over recent years [19], making it difficult to establish a cause-effect relationship between air pollution and acute health events. Temperature has also been shown to contribute to excess winter mortality [14, 15, 20]. Preliminary work undertaken elsewhere in the Czech Republic suggest that this factor is not significant in the Czech Republic when the influence of seasonality is excluded (data not shown).

The overall decline in deaths in the Czech Republic that can be seen in Figure 1 may be due, in part, to improving health care following political change in 1989. After this time, life expectancy increased quickly. This political change also resulted in dramatic changes in demography during the study period, making it necessary to adjust for population size in the model.

Whilst published estimates of influenza associated excess mortality vary widely, the conclusions of this study are consistent with those derived by the USA

Table 1. Estimated excess number of annual deaths attributable to influenza in the Czech Republic, 1982–2000

Season	Peak weekly ARI morbidity (per 100,000 population)	Duration of epidemic (weeks)	Predominant influenza virus strain	Difference between observed and expected annual deaths from all causes		No. of deaths from all causes above tolerance level (epidemic periods)
				absolute number	rate per 100,000 population	
1982–1983	3874	9	A/Bangkok 1/79 (H3N2)	507	53.68	3148
1983–1984	2108	13	A/Brazil 11/78 (H1N1) B/Singapore/222/79	4841	47.18	3202
1984–1985	1671	9	A/Philippines 2/82 (H3N2)	2584	25.17	2041
1985–1986	3323	12	A/Philippines 2/82 (H3N2)	4570	44.50	2174
1986–1987	2634	5	A/Singapore 6/86 (H1N1)	1124	10.94	1132
1987–1988	1820	4	A/Singapore 6/86 (H1N1)	-918	-8.93	-1020
1988–1989	3885	8	A/Sichuan 2/87 (H3N2)	1605	15.61	976
			A/Singapore 6/86 (H1N1)			9.50
1989–1990	1622	13	A/Sichuan 2/87 (H3N2)	3481	33.86	2632
1990–1991	2955	6	B/Victoria 2/87 B/Yamagata 16/88	2631	25.59	1668
1991–1992	3005	5	A/Beijing 3/53/89 (H3N2)	2604	25.47	1599
1992–1993	2234	8	B/Panama 4/90	1823	17.81	1372
1993–1994	1496	7	A/Shandong 9/93 (H3N2)	2209	21.57	1745
1994–1995	1055	11	A/Johannesburg 33/94 (H3N2)	-597	-5.83	-730
			B/Beijing 18/93			-7.13
1995–1996	3647	15	A/Wuhan 35/95 (H3N2)	6172	60.41	4501
			A/Johannesburg 33/94 (H3N2)			44.05
1996–1997	2935	12	B/Harbin 7/94 A/Bayern 7/95 (H1N1)	3035	29.75	2032
1997–1998	1852	14	A/Wuhan 35/95 (H3N2)	352	3.45	176
			A/Bayern 7/95 (H1N1)			1.73
1998–1999	3258	6	A/Sydney 5/97 (H3N2) B/Harbin 7/94	3478	34.20	2459
1999–2000	2803	5	A/Sydney 5/97 (H3N2)	3399	33.47	2422
			A/Moscow 10/99 (H3N2)			23.85
			Mean	2661	25.99	1752
						17.11
						1125

Centres for Disease Control (2.2% annual mean of influenza associated deaths) [21], and England and Wales (2.3% annual mean) [1].

During seasons where influenza activity in the Czech Republic was particularly low, such as 1987/1988 and 1994/1995, mortality was correspondingly low. The highest mortality rates during influenza epidemic periods were associated with the circulation of influenza A subtype H3N2. It is well recognised that influenza A (H3N2) is associated with a more serious course of illness [2]. Influenza A/H3N2 was the predominant circulating strain in the Czech Republic during all seasons when excess mortality during the influenza epidemic period alone exceeded 1,000 deaths (1982/1983, 1985/1986, 1991/1992, 1995/1996, 1998/1999 and 1999/2000).

In contrast to many West European countries or the USA, relatively low influenza vaccination coverage was achieved in the Czech Republic for the period under study [6]. The highest vaccination coverage (3.8% population), was reported in the year 2000; higher rates of vaccination have only been achieved subsequently. Data in this study suggest that more than 2% of all cause mortality in the Czech Republic is attributable to influenza. Improving influenza vaccination uptake will contribute to preventing influenza-associated morbidity and mortality, even if it is unlikely to result in a massive reduction in the number of all cause of deaths.

Acknowledgements

The authors are grateful to Dr Bela Tumova, senior member of the European Scientific Working Group on Influenza (ESWI) for her comments and reviewing the manuscript. JK acknowledges the International Epidemiological Association - European Epidemiology Federation that awarded him a bursary to present part of this study as an oral presentation at the European Congress of Epidemiology, 8–11 September 2004, Porto, Portugal.

References

- Fleming DM. The contribution of influenza to combined acute respiratory infections, hospital admissions, and deaths in winter. *Commun Dis Public Health* 2000; 3: 32–38.
- Simonsen L, Clarke MJ, Williamson GD, Stroup DF, Arden NH, Schonberger LB. The impact of influenza epidemics on mortality: Introducing a severity index. *Am J Public Health* 1997; 87: 1944–1950.
- Watson JM, Goddard N, Joseph C, Zambon M. Influenza present: The impact of the 1999/2000 epidemic on morbidity and mortality in the UK. In: Osterhaus A, Cox N and Hampson A. (eds): Options for the Control of Influenza IV. Amsterdam: Excerpta Medica, 2001: 21–23.
- CDC. Prevention and control of influenza: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 2004; 53 (Early Release): 1–40.
- Nichol KL. The efficacy, effectiveness and cost-effectiveness of inactivated influenza virus vaccines. *Vaccine* 2003; 21: 1769–1775.
- van Essen GA, Palache AM, Forleo E, Fedson DS. Influenza vaccination in 2000: Recommendations and vaccine use in 50 developed and rapidly developing countries. *Vaccine*. 2003; 21: 1780–1785.
- Joseph C, Goddard N. Influenza vaccine uptake in the elderly: Results from a rapid assessment of the effectiveness of new government policy in England for the winters 2000/2001 and 2001/2002. *Vaccine* 2003; 21: 1137–1148.
- Monto AS. The role of antivirals in the control of influenza. *Vaccine* 2003; 21: 1796–1800.
- Sovinova O, Tumova B, Pouska F, Nemec J. Isolation of a virus causing respiratory disease in horses. *Acta Virol* 1958; 2: 52–61.
- Tumova B, Heinz F, Syrucek L. et al. Occurrence and aetiology of acute respiratory diseases: results of a longterm surveillance programme. *Acta Virol* 1998; 33: 50–62.
- Heinz F, Tumova B, Syrucek L. Analysis of deaths from acute respiratory diseases in the CSR in 1975–1986 (in Czech, English summary). *J Hyg Epidemiol Microbiol Imunol (Prague)* 1988; 37: 257–263.
- Kyncl J, Prochazka B, Benes C, Havlickova M, Kriz B. Improving the Acute Respiratory Infection Notification System in the Czech Republic. The First European Influenza Conference, St.-Julians, Malta, 20–23 October 2002, poster No. P-W1-11, abstract book p. 54.
- Assaad F, Cockburn WC, Sundaresab TK. Use of excess mortality from respiratory diseases in the study of influenza. *Bull WHO* 1973; 49: 219–233.
- Donaldson GC, Keatinge WR. Excess winter mortality: Influenza or cold stress? Observational study. *Br Med J* 2002; 324: 89–90.
- Fleming DM, Cross KW, Watson JM, Verlander NQ. Excess winter mortality. Method of calculating mortality attributed to influenza is disputed. *Br Med J* 2002; 324: 1337.
- Serfling RE. Methods for current statistical analysis of excess pneumonia-influenza deaths. *Public Health Rep* 1963; 78: 494–506.
- Tillett HE, Smith JW, Gooch CD. Excess deaths attributable to influenza in England and Wales: age at death and certified cause. *Int J Epidemiol* 1983; 12(3): 344–352.
- Kysely J, Kriz B. High summer temperatures and mortality in the Czech Republic in 1982–2000 (in Czech, English summary). *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2003; 52: 105–116.
- Fiala J, Bretschneider B, Keder J, Machalek P, Sladeczek J. State and trends of environmental components: The air. In: Lizner M. (ed): Statistical environmental yearbook of the Czech Republic, 2001. Prague: The ministry of the environment of the Czech Republic, 2001: 129–167.
- Aylin P, Morris S, Wakefield J, Grossinho A, Jarup L, Elliott P. Temperature, housing, deprivation and their

- relationship to excess winter mortality in Great Britain, 1986–1996. *Int J Epidemiol* 2001; 30: 1100–1108.
21. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, et al. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA* 2003; 289: 179–186.

Address for correspondence: Dr. Jan Kyncl, Department of Epidemiology, National Institute of Public Health, Srobarova 48, 100 42 Prague 10, Czech Republic
Phone: + 420-267-082-891; Fax: + 420-272-741-433
E-mail: jkyncl@szu.cz



Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT[®]

Vaccine xxx (2005) xxx-xxx

www.elsevier.com/locate/vaccine

A new European perspective of influenza pandemic planning with a particular focus on the role of mammalian cell culture vaccines

J.S. Oxford*, C. Manuguerra, O. Kistner, A. Linde, M. Kunze, W. Lange, B. Schweiger, G. Spala, H. Rebelo de Andrade, P.R. Pérez Breña, J. Beytout, L. Brydak, D. Caraffa de Stefano, O. Hungnes, J. Kyncl, E. Montomoli, A. Gil de Miguel, R. Vranckx, A. Osterhaus

Centre for Infectious Diseases, Retroscreen Virology Ltd, Bart's and The London, Queen Mary's School of Medicine and Dentistry, 327 Mile End Road, London, E1 4NS, UK

Received 28 September 2004; accepted 5 October 2004

Abstract

Sixteen EU scientists and doctors were interviewed about pandemic planning using psychometric methods applied to a scientific problem for the first time. Criticism was aimed at countries which have no plan whatsoever, the majority of nations. Many such countries have not invested in scientific infrastructure and public health. Amongst the 15 or so published pandemic plans a lack of detail was identified. Of particular need was investment into avian virus vaccine stocks (H1-15), prepared licenses of vaccine and pre purchase and agreed distribution, investment into stocks of antivirals, antibiotics and masks. Most but not all members of the group predicted a global outbreak within 5 years, most probably starting in SE Asia. However it was recognised that a pandemic could start anywhere in the world which had juxtaposition of young people, chickens, ducks and pigs. Mammalian cell culture production using wild type virus with the production factory at category III levels of security was exemplified. Antivirals would be essential to ameliorate the first wave of infection although significant quantities of cell grown vaccine could be produced if, as in 1918, 1957 and 1968 there is a long period between the first virus isolation and person to person spread. The wider scientific community is more energised than previously for very serious preparations to be in place way before the outbreak begins as this is a major public health problem, completely dwarfing concerns about bioterrorism.

© 2005 Published by Elsevier Ltd.

Keywords: Pandemic planning; EU; Influenza; Antivirals; Vaccines; Cell culture; Eggs

1. Introduction

The WHO has encouraged every member country to produce a pandemic plan. Very few countries in the world have so far complied. Such disregard for public health planning in many countries is potentially dangerous for their citizens and could compromise otherwise well considered plans of other adjoining and adjacent countries which could be inundated and overwhelmed in an outbreak. This adjacency problem is particularly acute in the EU where there is free access across borders but could also affect

the USA with border transfer in Mexico, and also many countries in SE Asia and the wider non-EU countries of Europe and the Middle East. The absence of urgency in many countries also equates to lack of investment in research infrastructure, virus surveillance, vaccine development and antiviral stockpiles. The public health problem is even wider now with newly emerging viruses such as SARS [1], chicken H9 and H5 influenza in SE Asia [2,3] H7 in Europe [4] and monkey pox in the USA [5]. An influenza pandemic plan can, in fact, operate as a template for a range of viruses and bacteria and can even incorporate important elements for a potential bio-terrorist threat with, for example, smallpox.

Most of the 15 or so national influenza pandemic plans focus quite properly upon organisation, communication and

* Corresponding author. Tel.: +44 207 882 6997; fax: +44 207 882 6990.
E-mail address: j.s.oxford@retroscreen.com (J.S. Oxford).

logistics. The plans vary in length and many give the impression of being a textbook of influenza. More attention could be placed on the scientific aspects and particularly vaccine production. This was the focus of the first scientific EUVIVA (European Vero-cell Influenza Vaccine Advisory Council) meeting in Barcelona at the end of 2003, reported here. Most pandemic plans are extremely general about the use of vaccines, while acknowledging that little vaccine could be formulated initially for the first wave of infection using licensed vaccines produced in embryonated hens' eggs.

In the present comparative analysis of pandemic plans, we have analysed vaccine production capability in the EU and thereby reassessed the impact of vaccine in the light of the newest technologies of potentially rapid cultivation of novel pandemic viruses in mammalian cells such as Vero [6] and MDCK [7,8]. A further scientific aspect is that many avian influenza A viruses, perhaps the most likely future pandemic virus, kill embryonated hens' eggs, the medium used for most vaccine production at present worldwide and hence eggs may not be the substrate of choice for a pandemic vaccine production.

Most of the published pandemic plans have been constructed by government experts and consultants with less or no input from pharmaceutical companies and vaccine producers. The present group was selected as exclusively pan European but with a particular expert focus on vaccines including production expertise and also antiviral drugs. Therefore, the analysis would be expected at its very least, to disclose a novel view of pandemic planning.

2. Method

We have utilized a novel assessment technique [9] to question anonymously and in depth a group of 16 Influenza scientists and doctors in 12 European countries. We have used psychometric methods for our analysis of pandemic planning which combine a depth of content of qualitative interview with statistical analysis of associative comparison of pairs. Each member of the group was questioned for 2 h on the telephone or in person by the same interviewer. The answers were anonymised, unified in a matrix and the results presented graphically.

The phrases arranged around the sphere are a typical extract of the answers from the interview and define the meaning of the different spatial relations.

Analyses that are different are spatially separated in a multidimensional and rotatable space and form a wide angle (see Fig. 1a–c). Elements that are similar are close together and form a narrow angle. The complete group then discussed the initial interview result together and the present communication bridges both the interviews and the computer aided group discussion. This is the first application of this methodology to a scientific problem. The methodology has been most applied to utilize the creativity of a group in an anonymous manner in the business rather than scientific environment [9].

3. Comparison of pandemic plans within and without the countries of the EU

The 16 interviewees expressed very different views on preparedness planning in their own countries. In comparison to the local national plans, the European or the world situation was viewed much more critically (Fig. 2a). In short, the group could not identify a plan, either on a national, EU or WHO level, which totally matched their ideal pandemic preparedness plan. Such an ideal plan would present and rehearse a series of responsible emerging scenarios and indicate clear lines of command and responsibility in detail (Fig. 2b). Particularly important would be clear political decisions and also financial commitment, which have been agreed and taken ahead of a pandemic. The ideal plan would engage new scientific aspects of vaccines, viral diagnosis and antivirals, be ecologically responsible with a defined budget and with a strong economical base. It would guarantee fair distribution of vaccine and pre-organise vaccine supply in a clearly defined manner. It would include a stockpile of antiviral drugs (neuraminidase inhibitors (NIs) and M2 blockers) and a cohort of already characterised viruses (H1–H15) and corresponding reagents, which could be quickly used for vaccine production. Particularly important would be a pre agreed protocol with vaccine registration authorities (EU, and International) to speed licensing of a new vaccine; particularly a GM (genetically modified) vaccine produced using reverse genetics. This particular point was considered to be extremely important.

Following an analysis of an ideal plan two sub groups of responders with different perspectives were recognised. Seven contributors (Fig. 2c) were less critical of the overall levels of preparedness and this group viewed the situation in their own country as quite positive. In contrast, nine contributors were much more critical of all plans and did not identify significant differences between planning worldwide, EU or nationally (Fig. 2d). The latter group emphasised lack of planned organisation and absence of guaranteed production of vaccine for a pandemic whereby the more positive alternate group focused on medical aspects. The UK plan was identified as relevant with a well-structured clear responsibility for decisions, collaboration experience and good surveillance for viruses. A missing feature of all plans was stockpiling of either antivirals or of vaccine strains therefore assuring immediate availability. This was identified as a particular weakness with antivirals. In contrast, a stockpiled genetically produced H5 vaccine, for example would in probability not be perfectly antigenically matched to a new emergent H5 virus. The new molecular technique of reverse genetics [10] does allow a very rapid formulation of a vaccine virus with deletion of HA1–HA2 spanning basic amino acids, so ensuring partial attenuation of the virus to enable such a virus to be grown in a factory without risk to production staff.

The WHO plan was recognised as a strong blueprint but there was an absence of scenarios for vaccine manufacturing,

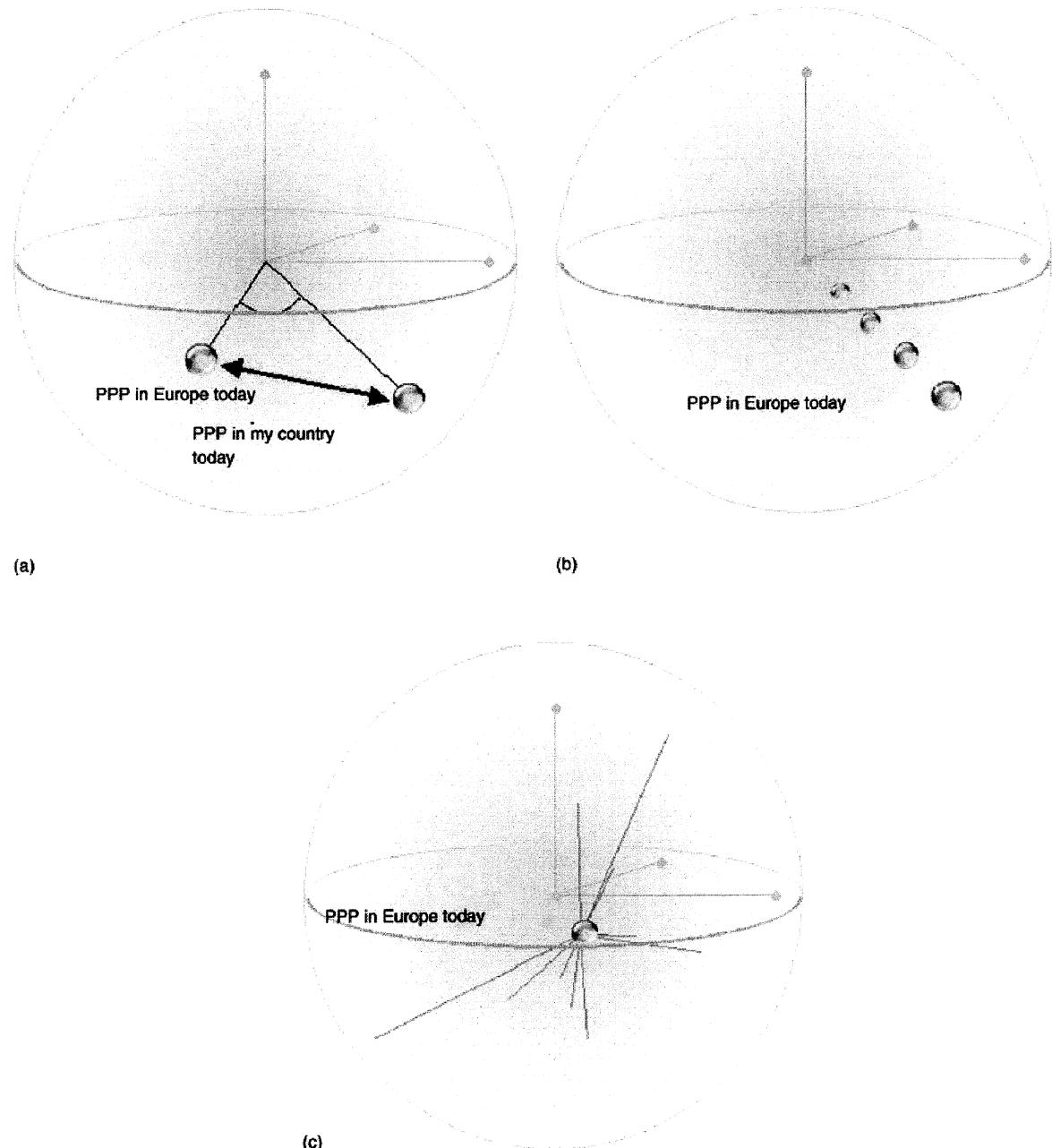


Fig. 1. The methodology of the psychometric analysis. (a) The averaged view of an element, e.g. "Pandemic Preparedness Planning (PPP) in Europe today" is indicated by the position of the globes. Similarity or distinction of different elements are shown by spatial distance and angle. (b) The further outside an element is positioned the more clear the descriptions have been assigned. In contrast the more central positioning indicates vague or ambivalent response. (c) The individual differences of the elements is shown by a star of dispersion. The endpoints of the dispersion lines relate to the view of a single interviewee.

absence of political responsibilities and scenario planning in general. In particular, no advice was offered for distribution rules and guaranteed distribution of vaccine. Thus, when a pandemic virus arises only a minority of countries will have the production capacity to manufacture new vaccine. In the EU, these countries are the UK, Germany, France, Italy, and The Netherlands. Additionally, cell culture vaccine facilities

are currently built in The Netherlands, Austria and the Czech Republic. This pandemic vaccine, in the absence of prior agreement, is likely to be prioritised to the country where the vaccine is produced. Alternatively, in the absence of a plan the vaccine may be sold to the highest bidder.

The WHO and the EISS (European Influenza Surveillance Scheme) laboratory networks were particularly acknowl-

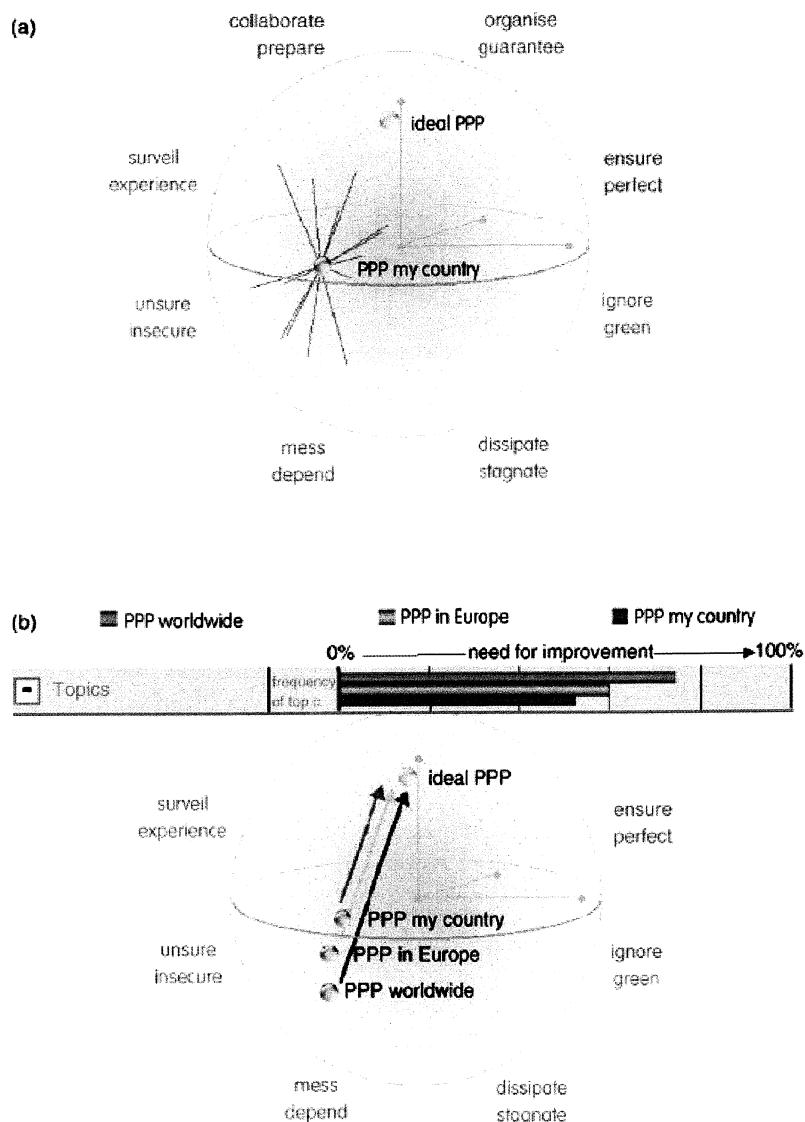


Fig. 2. Analysis of the features of national, regional or global pandemic preparedness. (a) Diversity in views of a Pandemic Preparedness Plan (PPP) in the interviewees own countries. (b) Need for improvement of pandemic planning as seen on local, regional and worldwide level. (c) Less critical subgroup viewpoint of national PPP. (d) More critical subgroup viewpoint of national PPP.

edged as key components for world pandemic preparedness. Laboratory surveillance was acknowledged by the group as a key component of preparations and this aspect has been very clearly tested in the recent outbreaks of SARS [1] and chicken H5 virus [43,50].

4. Origin of the next pandemic influenza A virus, spread and movement of the virus and encroachment upon Europe

Absolute density of humans and interaction with domestic animals such as pigs, and domestic chickens was viewed

by the group as a key component for the new emergence of a pandemic virus at a focal point somewhere in the world. Migratory birds were recognised as silent carriers of influenza A viruses which could be progenitor pandemic viruses. Geographical location per se was less emphasised by the group because human pandemics have emerged in the past in Europe, and possibly the USA, in addition to SE Asia. A particular emphasis was placed upon poor social economic conditions allowing more human contact initially with domestic birds and animals and then facilitating person-to-person spread. Large areas of the world would still match these emergent virus requirements, in addition to SE Asia.

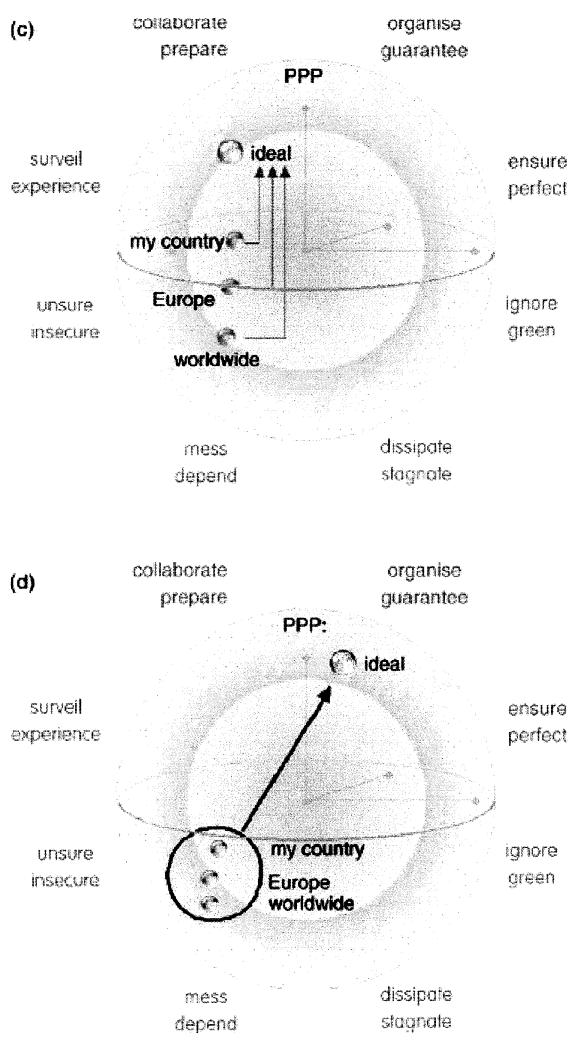


Fig. 2. (Continued).

Nevertheless, approximately half of the group expected the new virus to emerge in Asia (Fig. 3), although Europe was not excluded. In 1976, a swine H1N1 virus emerged from pigs in the USA and infected soldiers in an army camp [11] and a similar virus later caused a fatality in a pregnant woman. Indeed, the recent outbreak of H7 virus in Holland where a veterinarian died, 300 persons were infected and 35 million chickens destroyed [4] indicated that emergence of new influenza viruses was not restricted to SE Asia. It was noted that although the 1957 and 1968 pandemics emerged from SE Asia [12,13], the greatest pandemic, namely the so-called Spanish Influenza 1918 did not [47]. The latter virus most likely emerged in France [15] or, less likely, the USA [14].

A new pandemic virus would reach Europe, assuming a non-EU focal origin, within 1 month of emergence although a more extended experience of 2–3 months was also supported by a proportion of members. This was discussed in terms of

the 1918, 1957 and 1968 pandemic where 'grace' periods of 1 year and 5–6 months, respectively were recorded [15]. Finally, the group agreed that arrival of a new virus did not automatically lead to an outbreak.

Rather, a particular emphasis was placed on a succession of epidemic waves following the introduction of a new virus and how this would affect planning because prevention requirements could be very different at each successive wave. Groups in the population that would be affected most were predicted to be the elderly and very young children but also the socially active middle aged group. These successive waves were experienced in all three pandemics of the 20th century. Thus, after the 1918 pandemic serious outbreaks occurred every 2–3 years through the next 6 years (reviewed in [13]).

The question of timing of an outbreak was subject to considerable variation of opinion with six scientists assessing a pandemic within 5 years, five interviewees within 5–10 years and four not willing to predict. It should also be acknowledged that one expert disagreed that there would be a future pandemic at all. As regards geographical location and considering the view of the population density and the juxtaposition of poultry, overwhelmingly most members considered Asia the most likely focus, one person considered Central or Southern America and one person the Middle East, Russia or the European border at Turkey as potential foci for emergence of pandemic influenza A virus (Fig. 3).

5. The use of mammalian cell derived influenza vaccines in a pandemic

The group acknowledged that embryonated hens' eggs have been used successfully to cultivate influenza viruses for vaccines for half a century and that these vaccines were protective [26]. However, the method is cumbersome, since each embryonated egg has to be inoculated with virus and incubated before harvesting small volumes of allantoic fluid from each egg. Typically between 1 and 2 eggs are used for each dose of inactivated influenza vaccine. Such eggs are not normally SPF (specific pathogen free) and hence may be a source of avian retroviruses, which may compromise the safety of live attenuated vaccines [6]. In addition, eggs exert a strong selective pressure for antigenic variants, which may differ from the wild type virus [16–18] circulating in the population.

In contrast, experimental inactivated influenza virus vaccine produced from virus cultivated in mammalian cells induced higher HI antibody titres than comparable egg grown virus and induced superior protection [19].

Two mammalian cell lines have been used for influenza vaccine production namely MDCK cells [7,8] and Vero cells [6,20–22]. Vero cells have the additional advantage of already having been licensed for production of polio and rabies vaccines [23]. On the other hand special techniques with Vero cells are required to match virus titres to those obtained

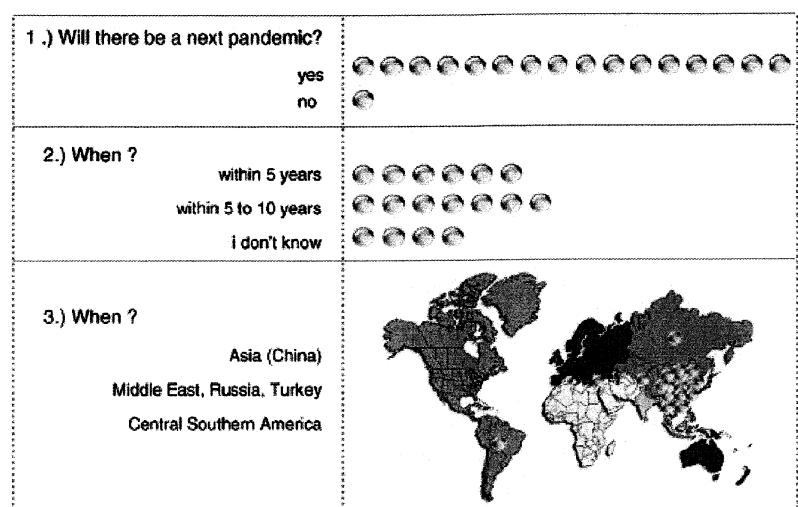


Fig. 3. Where will the next pandemic emerge?

in MDCK cells. Influenza A and B viruses have now been cultivated in an industrial scale in Vero cells in 1200 l micro-carrier culture fermenters and higher HA titres are obtained compared to monolayer cultures [6]. More recently, vaccine production in Vero cells has been successfully expanded to 6000 l fermenters (O. Kistner, personal communication) in a production site in Bohumil, Czech Republic.

As regards a vaccine against a pandemic virus a potential advantage of this cell culture system is that wild type influenza viruses can be used directly for vaccine production thereby reducing the time needed (1–2 months) until a potential initiation of the production cycle. In contrast, a longer lead-time is needed to prepare higher growth reassortants required before virus is grown in embryonated hens eggs.

It is considered currently that an avian virus such as H5, H7 and H9 may be progenitors of the next pandemic virus although the view that pandemic influenza viruses are restricted to H1, H2 and H3 and recycle is still extant [24]. Experimentally the chicken viruses do not easily infect human volunteers and produce few, if any, symptoms [25]. Often the avian influenza A viruses kill embryonated hens eggs during replication and therefore the wild type virus cannot be used directly in eggs to grow vaccine virus. The application of reverse genetics [44,45] with excision of pathogenic sequences in the avian HA gene, may in the near future, allow the selection of suitable viruses but again the time required is likely to approximate to 1–2 months [53].

Additionally, the avian viruses such as H5 can only be cultivated in a laboratory of biosafety level III because of the hazard of escaping virus infecting chickens or indeed staff in the unit in the country where vaccine is produced. It is extremely difficult to infect and harvest embryonated hens' eggs at this degree of containment. But two units have now been constructed for cell culture vaccine at category III level vaccine production thus avoiding any risk to staff and the environment. We were aware that egg grown vaccines have

been demonstrated very clearly to be effective vaccines in the inter-pandemic period able to reduce hospitalisation and death in the elderly 'at risk' group [26]. More recent data also indicates beneficial effect at preventing stroke and heart diseases [27] itself indicating that there is more to be discovered about the molecular pathology of influenza in humans including virus H5N1 [49].

The two main issues in a pandemic situation is speed of production and quantity of vaccine. With cell culture vaccines the group particularly emphasised the immediacy of use and hence speed of production without a need to make reassortants or to genetically modify the virus. It was apparent that there was, in theory, no limit to production quantity using mammalian cells. The group agreed that influenza vaccine was the key preventative method to protect the population against a pandemic virus.

Some distribution problems were discussed of the use of vaccines, both egg grown and cell grown. Thus, distribution of the vaccine could be unregulated and unfair unless countries agree in a pandemic plan to place orders for certain quantities ahead of time. In Europe, there is a large egg based vaccine production capacity only in the UK, The Netherlands, France, Italy and Germany as well as cell culture plants in the Czech Republic, The Netherlands and Austria.

A further scientific point was that the genetic modification required of, for example, an H5 virus to allow it to grow in eggs, for vaccine production without killing the embryo, would change the virus to a genetically modified (GM) product. In certain countries, GM biologicals are viewed with some criticism and it could not be predicted how different countries would react to licensing such a vaccine. In addition, precautionary measures might make it necessary to still use biosafety level II+ or III facilities for the production of vaccine using Reverse Genetics [28]. To avoid all these potential problems critical decisions need to be taken immediately and ahead of time, so that an overall agreement is reached

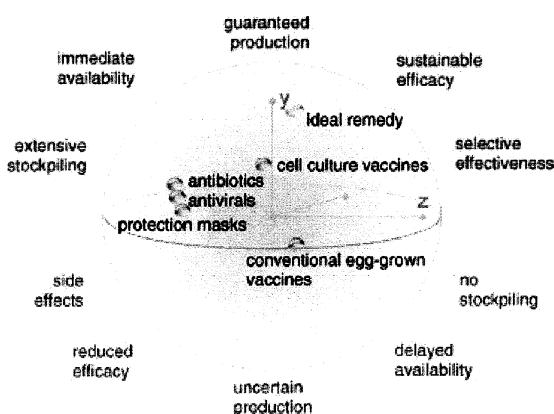


Fig. 4. The role of cell and egg grown vaccines, antibiotics, antivirals and masks.

beforehand. The recent widespread outbreaks of chicken H5 influenza in the SE Asia [29] and of H7 and H5 in Europe and the USA [4] can be taken as warning of pandemic imminency (Fig. 4).

6. The use of antivirals, antibiotics and masks in a pandemic

An important point to consider in a plan is the stockpiling of antiviral drugs. The group favoured this approach particularly given the 20-year half-life of at least one neuraminidase inhibitor (NI) when stored in bulk. The synthesis of the NIs is not simple and the industrial capacity to synthesis large quantities of, for example, Oseltamivir was not in existence until recently. Indeed it takes 12 months to construct an industrial plant to produce large quantities of the drug. Therefore, as with vaccine, advance planning and a sizeable monetary investment are required. Investment in building an industrial plant for cell culture vaccine at the same time allows for increasing pandemic preparedness as well as for generating additional vaccine for the inter-pandemic years (currently around 250 million doses of influenza vaccine are produced and sold yearly in the world). Many governments so far have not been willing to place orders for the NI drugs. In the UK the NICE (National Institute for Clinical Excellence) has discouraged use of the NIs and restricted their use to the at risk group and even in this situation for use as a therapy in already infected individuals. In contrast, controlled field studies with the NIs, [30], and much earlier with amantadine [31] have shown that preventative application in, for example, the family group is an extremely effective use of these drugs. Approaching 80–90% protection can be achieved even in so-called post-infection prophylaxis. Here, although the index case of influenza already has the symptoms and would, under normal circumstances have spread the virus to the family, the family can still be protected so long as drug is administered within 24–36 h of the first symptoms in the index case [30,32–34].

However, we also recognised that the new drugs are expensive. Amantadine (lysovir) is less costly but recent experience with the H5N1 virus in SE Asia has shown that the virus already has pre existing drug resistance mutations in the M2 protein to amantadine. Obviously, no drug is without side effects, and nor is any vaccine. Any person omitting to take an antiviral drug on a daily basis would become immediately vulnerable to infection and should the first wave last 4–6 weeks, which is not unlikely, and then the cost of drug would escalate. Nevertheless the group recognised that antivirals could be used very efficiently at the epicentre at the very start of an outbreak and also to blunt the effects of the first wave during a new pandemic.

Antibiotics are used throughout the world against secondary infections, following influenza, particularly caused by *Streptococcus pneumoniae*. A pandemic would lead to a very significant surge in demand for antibiotics. Finally, light weight paper masks were used in SE Asia particularly during the SARS outbreak [35,54,41]. Used properly such masks could mitigate droplets coming directly from a sneeze or cough and therefore, together with increased hygiene and surface cleanliness have a role to play in reducing spread of a pandemic virus. Deliberate person distancing by introducing prohibition on large social gatherings at theatres and cinemas has been used in previous pandemics and although common sense would suggest an ameliorating effect on virus spread there is no published evidence apart from anecdotal to support this. Immediate quarantining had a significant effect on the spread of SARS but this virus is considerably less infectious than influenza, with a relatively low R value and long incubation, and persons excrete most virus at the time of clinical symptoms and for an extended period of up to 7–10 days afterwards. On the other hand the total quarantine in Western Samoa in 1918 prevented access of even this highly infectious influenza virus and delayed entry by 1 year to Australia [47], but this would be almost impossible to achieve in the highly mobile and international world of 2004.

7. Discussion

Certain of the findings for the anonymous interviews with the scientists from 12 EU countries were unexpected. Thus, one scientist considered that no future pandemic of influenza would occur. This surprising opinion deserves some further consideration because several (EU) countries are preparing investing in stockpiles of the new antiviral drugs and vaccines. The last century, of course, experienced three global outbreaks in 1918, 1957 and 1968 (reviewed by [15,46]). Surprisingly, almost everything is now known about the structure of the 1918 virus, its pathology [36], virology [52,51] and genetics and origin as compared to the other two later pandemics of that century [37–39]. But since 1968, the last pandemic, the epidemiology of influenza A has been totally unique with two subtypes of influenza A virus, namely H1N1 and H3N2, co circulating. It is theoretically possible that

continual re infection or immune stimulation with these two subvirus types could maintain the level of heterotypic immunity (viz. cross immunity between the subtypes of influenza) at a higher level than in the earlier part of the century and that whilst two influenza A viruses continue to co circulate the possibility of the introduction of a third pandemic influenza A virus will remain exceedingly remote. A curiosity of past pandemics has been the immediate disappearance of the previous pandemic virus. Thus following the appearance of the so-called influenza A/Hong Kong (H3N2) virus in China in 1968, no confirmed isolations of the previously circulating influenza A Asian (H2N2) virus were ever recorded. Descriptions of the recovery of a purported influenza A H2N2 virus in 1972 was not confirmed and a WHO report subsequently listed conditions to be fulfilled before a virus out of its time period could be recognised as a natural emergent virus rather than a simple laboratory contamination. At present, we have no information on viruses preceding the Great Pandemic of 1918 although it is speculated that the preceding Russian pandemic of 1889–1900 was caused by an influenza A (H3N2) virus whereas a short appearance of H2N2 at the turn of the century has also been discussed [40]. The present complex epidemiological situation with influenza A H5N1 viruses in twelve countries of SE Asia unfortunately does not help us to make future predictions. However, it could be noted that despite very significant opportunities for emergence and subsequent human-to-human transfer in some of the poorest and overcrowded countries of the world during a 12-months period no pandemic has yet started. Perhaps the H5 virus is incapable of sustained human-to-human spread. On the other hand, it could be argued strongly that the practical and rapid intervention of WHO and national authorities, by isolating human cases and killing infected chickens coupled with the very significant increase in rapidity of diagnosis using RT PCR may have aborted a world outbreak. Certainly, no such interventions happened in 1918, 1957 or 1968. Therefore, we could deduce that future pandemics can be avoided if rapid and decisive action is taken. The SARS outbreak in contrast, is not applicable to the discussion because of the lower infectiousness of the virus [1,41].

Nevertheless most scientists in the group and around the world consider a pandemic of influenza A to be overdue and that national plans should be used as an important basis and should be improved upon. A serious gap is the paucity of plans from SE Asia where there have been serious outbreaks of potential pandemic viruses.

The UK plan was considered by the group, amongst the national plans, worth emulating. However, pandemic plans do not outline clearly any requirements for a stock of antivirals, reserving of vaccine production capacity or a collection of characterised vaccine viruses H1–H15 that could be used quickly to produce vaccine against the first pandemic wave. In the three pandemics of the last century there was a long phase of around 6–12 months between the discovery of a new virus and widespread transmission in the community [15]. We concluded that with a putative avian pandemic wild type

virus cultivated in Vero cells in containment level 3 a very significant amount of whole virus vaccine could be manufactured using a microcarrier fermenter system during this long phase. A minimum world requirement would be around 100 million doses of vaccine to protect initially health care workers, and persons with key community occupations such as computer specialists, lorry drivers, petrochemical plant workers, police, fireman. In clinical trial experiments during the re-introduction of the H1N1 virus in 1977, a whole virus vaccine was shown to be more immunogenic than a subunit or split (vaccine) particularly in an immunologically naïve population at the time of the introduction of a new pandemic influenza A virus. There is still significant worldwide capacity to manufacture a pandemic virus vaccine using embryonated hens' eggs and this situation is likely to remain for the oncoming 5 years or more. Therefore, with the use of reverse genetics to alter the HA to reduce virus virulence a vaccine could be made in eggs in a lower containment level and this vaccine would be useful for second or third waves of the virus in succeeding winters. Such a more long term plan for subsequent waves would also allow the expansion of layer hens and cockerels and hence expansion in the number of embryonated eggs to enable higher production levels of vaccines.

The group considered that modern antibiotics would ameliorate the bacterial complications of influenza in the community and that rather unexpectedly masks could also have a role to play. Masks have been shown recently to correlate with positive outcomes on the SARS outbreaks in SE Asia [35]. Of very high importance though would be a stockpile of antiviral drug particularly neuraminidase inhibitors or M2 blockers. This antiviral prophylaxis and post exposure prophylaxis (PEP) could be used to surround the immediate focus of virus emergence. Meanwhile vaccine production would commence using wild type viruses of Vero and MDCK cell vaccines to combat the first and subsequent waves. Vaccines produced in embryonated hens' eggs using a genetically modified virus would then be available for subsequent waves of infection, in addition to cell culture vaccine.

Finally, the group recognised that in a worldwide sense there was no internationally organised integration of surveillance of avian or animal influenza A viruses with human viruses, which could be the most likely cause of the next pandemic. In essence, there was a serious gap between veterinary virologists and medical virologists in many countries and also between their perspective employers. This has been illustrated in the H5N1 influenza outbreaks where national veterinary authorities have restricted import of so-called veterinary influenza A viruses whereas the same virus can be viewed as a 'human' pandemic virus. For example, in the UK during the 1997–1998 influenza A H5N1 outbreak in Hong Kong, the main concern was to restrict work on the virus to prevent spread to the national chicken industry and this does not expedite work on human vaccines.

No guidance is given in current pandemic plans about the new GM influenza vaccines constructed using reverse genet-

ics [48,53]. In some countries, vaccine production and even use could be impeded by national GM regulations. In addition, it was also felt that global planning efforts were not strong enough in discussion about stockpiling potential vaccine viruses of the H1–H15 subtypes. The latter viruses could be selected in advance using the wild type virus as basis for the production of Vero and MDCK vaccines and genetically engineered to allow high growth in eggs without danger to employees in vaccine production plants and placed in storage until needed. Although such viruses would not by definition, be a perfect antigenic match to a newly emerged influenza A H1–H15 virus nevertheless some intertypic immunity and immunological priming would be expected to ameliorate the effects of the initial pandemic wave.

Compared to the pandemic emergence years of 1918, 1957 and 1968, we concluded that the international scientific community is now not content to simply observe the outbreak and world spread of this devastating disease, but led by WHO and using scientific advances of rapid molecular diagnosis, new techniques of vaccine production and new antivirals would move to inhibit and even stop the emergence and spread to humans at the very first focus of infection.

But, similarly to the procedure now established with recent public health initiatives, financial and scientific commitments to prevent the re emergence smallpox either naturally from monkey pox or, less likely, by direct and deliberate human intervention, a clear and thoroughly planned international commitment is needed for pandemic influenza. The influenza virus in three huge outbreaks of the 20th century killed at least 70 million citizens and could and possibly will do so again. Even in the USA Meltzer et al. [42] calculated that a new pandemic could result in over 80,000 deaths, 300,000 hospitalisation and 2 million additional illnesses with an economic impact of 70 billion US dollars. These same authors concluded that vaccinating 60% of the population would generate the highest economic return but that speed of vaccine product use was the essence of any pre planned strategy. The use of the new cell grown vaccines could for the first time enable unprecedentedly high-speed production of vaccine. The fact that these doleful and yet acutely analysed figures of mortality would be matched in the EU gives acute urgency to scientific research and to public health investment, planning and commitment to lessen the impact of the first pandemic of the 21st Century.

During our meeting the group of experts concluded that although tremendous steps have been made a more detailed and thorough pandemic planning on a national, regional and global level, remains to be done to secure adequate measures against the next influenza pandemic.

Acknowledgement

EUVIVA (European Vero-cell Influenza Vaccine Advisory Council) is sponsored by an unrestricted educational grant from Baxter Vaccines.

References

- [1] Peiris JS, Lai ST, Poon LL, Guan Y, Yan LY, Lim W, et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003;361:1319–25.
- [2] Peiris M, Yuen KY, Leung CW, Chan CH, Ip PL, Lai RW, et al. Human infection with influenza H9N2. *Lancet* 1999;354:916–7.
- [3] Hien TT, et al. Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. *New Engl J Med* 2004;350:1179–88.
- [4] Fouchier RA, Schreeberger PM, Ruzendaal FW, Broekman JM, Kermink SAG, Munster V, et al. Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory disease syndrome. *Proc Nat Acad Sci USA* 2004;101:1356–61.
- [5] Ensorink M. US monkey pox outbreak traced to Wisconsin pet dealer. *Science* 2003;300:1639.
- [6] Kistner O, Barrett PN, Mundt W, Reiter M, Schober-Bendixen S, Dorner F. Development of mammalian cell (Vero) derived candidate influenza virus vaccine. *Vaccine* 1998;16:960–8.
- [7] Palache AM, Brands R, van Scharenburg GJM. Immunogenicity and reactogenicity of influenza subunit vaccines produced either in Madin Darby Kidney (MDCK)-cells or in chicken eggs. *J Infect Dis* 1997;178(Suppl. 1):20–3.
- [8] Brands R, Palache AM, van Scharenburg GJM. Madin Darby Canine Kidney (MDCK)-cells for the production of inactivated influenza subunit vaccine. Safety characteristics and clinical results in the elderly. Proceedings of the Third International Conference on the Options for the Control of Influenza. Excerpta Medica 1996:683–93.
- [9] Sperlinger DJ. Aspects of stability in the repertory grid. *Br J Med Psychol* 1976;49:341–7.
- [10] Catchpole AP, Mingay LJ, Fodor E, Brownlee GG. Alternative base pairs attenuate influenza A virus when introduced into the duplex region of the conserved viral RNA promoter of either the NS or the PA gene. *J Gen Virol* 2003;84:507–15.
- [11] Dowdle WR. The 1976 experience. *J Infect Dis* 1997;176(1):S69–72.
- [12] Ministry of Health Report on Public Health and Medical Subjects No. 100 (1959). The Influenza Epidemic in England and Wales 1957–58.
- [13] Stuart-Harris CH, Schild GC, Oxford JS. Influenza, the virus and the disease. London: Edward Arnold; 1985.
- [14] Crosby AW. America's forgotten pandemic: the influenza of 1918. Cambridge: Cambridge University Press; 1989.
- [15] Oxford JS. Influenza A pandemics of the 20th century with special reference to 1918: virology, pathology and epidemiology. *Rev Med Virol* 2000;10:119–33.
- [16] Schild GC, Oxford JS, De Jong JC, Webster RG. Evidence for host-cell selection of influenza virus antigenic variants. *Nature (London)* 1983;303:706–9.
- [17] Oxford JS, Corcoran T, Knott R. Serological studies with influenza A (H1N1) viruses cultivated in eggs or in a canine kidney cell line (MDCK). *Bull WHO* 1987;65:181–7.
- [18] Oxford JS, Eswarasan R, Mann A, Lambkin R. Influenza: the chameleon virus. In: Graig A, Scherf A, editors. Antigenic variation. London: Academic Press; 2003. p. 52–83.
- [19] Katz JM, Webster RG. Efficacy of inactivated influenza A virus (H3N2) vaccines grown in mammalian cells or embryonated eggs. *J Infect Dis* 1989;160:191–8.
- [20] Memorandum from a WHO meeting. Cell culture as a substrate for the production of influenza vaccines. *Bull. WHO*, 73: 431–5.
- [21] Nakamura K, Homma M. Protein synthesis in Vero cells abortively infected with influenza B virus. *J Gen Virol* 1981;56:199–202.
- [22] Govorkova EA, Muri G, Meignier B, De Taisne C, Webster RG. African Green Monkey Kidney (Vero) cells provide an alternative host cell system for influenza A and B virus. *J Virol* 1996;70:5519–24.
- [23] Petricciani JS. Regulatory philosophy and acceptability of cells for the production of biologicals. *Dev Biol Stand* 1991;75:9–15.

- [24] Hope-Simpson E. Transmission of epidemic influenza. New York: Plenum; 1992.
- [25] Beare AS, Webster RG. Replication of avian influenza viruses in humans. *Arch Virol* 1991;119:37-42.
- [26] Fedson DS, Wajda A, Nichol JP, Hammond GW, Kaiser DL, Roos LL. Clinical effectiveness of influenza vaccination in Manitoba. *J Am Med Assoc* 1993;270:1956-61.
- [27] Nichol KL, Nordin J, Mullooly J, Lask R, Fillbrandt K, Iwane M. Influenza vaccination and reduction in hospitalisations for cardiac disease and stroke among the elderly. *New Engl J Med* 2003;348:1322-32.
- [28] Wood JM. Pandemic licensing within the EU, influenza vaccines for the world, lisbon, oral presentation; 2004.
- [29] Chan PK. Outbreak of avian influenza A (H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997. *Clin Infect Dis* 1997;34:58-64.
- [30] Hayden FG, Gubareva LV, Monto AS, Klein TC, Elliott MJ, Hammond JM. Inhaled zanamivir for the prevention of influenza in families. *New Engl J Med* 2000;343:1282-9.
- [31] Galbraith AW, Oxford JS, Schild GC, Watson GL. Protective effect of 1-adamantanamine hydrochloride on influenza A2 infections in the family environment: a controlled double-blind study. *Lancet* 1969;2:1026-8.
- [32] Welliver R, Monto AS, Carewicz O, Schatteman E, Hassman M, Hedrick J, et al. Effectiveness of Oseltamivir in preventing influenza in household contacts. *JAMA* 2001;285:748-54.
- [33] Gubareva LV, Kaiser L, Hayden FG. Influenza virus neuraminidase inhibitors. *Lancet* 2002;355:827-35.
- [34] Hayden FG. Perspectives on antiviral use during pandemic influenza. *Phil Trans Royal Soc* 2001;356:1877-84.
- [35] Lau, et al. Detection of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus nucleocapsid protein in SARS patients by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 2004;42(7):2884.
- [36] Winternitz MC, Wason IM, McNamara FP. The pathology of Influenza. New Haven, Conn: Yale University Press; 1920.
- [37] Taubenberger JK, Reid AH, Krafft AE, Bijwaard KE, Fanning TG. Initial genetic characterisation of the 1918 'Spanish' influenza virus. *Science* 1997;275:1793-6.
- [38] Reid AH, Janczewski TA, Lourens RM, Elliott AJ, Daniels RS, Berry CL, et al. Influenza pandemic caused by highly conserved viruses with two receptor-binding variants. *Emerg Inf Dis* 2003;9:1249-53.
- [39] Webster RG. Spanish Influenza: the secrets remain elusive. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:1164.
- [40] Potter CW. Chronicle of influenza pandemics. In: Nicholson KG, Webster RG, Hay AJ, editors. *Textbook of influenza*. Blackwell Science; 1998. p. 3-18.
- [41] Riley S, Fraser C, Donnelly CA, Ghani AC, Abu-Raddad LJ, Hedges AJ, et al. Transmission dynamics of the etiological agent of SARS in Hong Kong: impact of Public Health interventions. *Science* 2003;300:1961-6.
- [42] Meltzer MI, Cox NJ, Fukuda K. The Economic impact of pandemic influenza in the United States: priorities for intervention. *Emerg Infect Dis* 1999;5:659-71.
- [43] Bridges CB, Lim W, Hu-Primmer J, Sims L, Fukuda K, Mak KH, et al. Risk of influenza A (H5N1) infection among poultry workers, Hong Kong, 1997-1998. *J Inf Dis* 2002;185:1005-10.
- [44] Fodor E, Devenish L, Engelhardt OG, Palese P, Brownlee GG, Garcia-Sastre A. Rescue of influenza A virus from recombinant DNA. *J Virol* 1999;73(11):9679-82.
- [45] Hoffman E, Neumann G, Kawaoka Y, Hobom G, Webster RG. A DNA transfection system for generation of influenza A virus from eight plasmids. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(11):6108-13.
- [46] Mulder J, Hers JF. *Ph. Influenza*. Groningen: Wolters-Noordhoff Publishing; 1972.
- [47] Phillips H, Killingray D. The Spanish influenza pandemic of 1918-1919 new perspectives. Routledge Social History Med Ser 2002.
- [48] Rayner JO, Dryga SA, Kamrud KI. Alpha virus vectors and vaccinations. *Rev Med Virol* 2002;12:279-96.
- [49] Seo SH, Hoffman E, Webster RG. Lethal H5N1 influenza viruses escape host antiviral cytokine responses. *Nature Med* 2002;9: 950-4.
- [50] Shortridge KF, Zhou NN, Guan Y, Gao O, Ito T, Kawaoka Y, et al. Characterisation of avian H5N1 influenza viruses from poultry in Hong Kong. *Virology* 1998;252(2):331-42.
- [51] Smith W, Andrewes CH, Laidlaw PP. Virus obtained from influenza patients. *Lancet* 1933;225(ii):66-8.
- [52] Stevens J, Casper AL, Basler CF, Taubenberger JK, Palase P, Wilson IA. Structure of the uncleaved human H1 haemagglutinin from the extinct 1918 influenza virus. *Science* 2004;303:1966-70.
- [53] Wood JM. Developing vaccines against pandemic influenza. *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001;356(1416):1953-60.
- [54] Zau J, Tsui H, Lau M, Yang X. SARS transmission, risk factors and prevention in Hong Kong. *Emerg Inf Dis* 2004;10:4.