

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Sanja Kurečić Filipović

**Procjena djelotvornosti
cjepiva protiv gripe u sezoni 2010.-11.**

DISERTACIJA

Zagreb, 2016.

Rad je izrađen u Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo

Voditeljica rada: Prof. dr. sc. Ira Gjenero-Margan, dr. med.

Zahvala:

Zahvaljujem na stručnoj i moralnoj podršci svojoj mentorici, profesorici Iri Gjenero-Margan.

Zahvalna sam i svim dragim ljudima koji su mi nesebično pomogli tijekom izrade ovog rada, posebice Esther Kissling, no i kolegama u Službi za epidemiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo.

Za najveću i bezrezervnu podršku zahvaljujem svojoj obitelji, Borni i Alanu te mojoj dragoj majci kojima i posvećujem ovaj rad.

Sadržaj

1. UVOD I SVRHA RADA	1
1.1. Gripa	1
1.2. Cijepljenje protiv gripe	3
1.3. Učinkovitost i djelotvornost cjepiva protiv gripe	7
1.3.1. Učinkovitost i djelotvornost u odraslih osoba do 65 godina starosti	9
1.3.2. Učinkovitost i djelotvornost u starijih osoba	9
1.3.3. Učinkovitost i djelotvornost u osoba s kroničnim bolestima	10
1.3.4. Učinkovitost i djelotvornost u djece	10
1.3.5. Učinkovitost i djelotvornost u trudnica i novorođenčadi	12
1.4. Trajanje imuniteta i zaštite nakon cijepljenja protiv gripe	13
1.5. Svrha rada	13
2. HIPOTEZA	16
3. CILJEVI RADA	17
4. MATERIJALI I METODE	18
5. REZULTATI	24
5.1. Deskriptivna analiza	24
5.2. Stratificirana analiza	44
5.3. Djelotvornost cjepiva	48
5.3.1. Djelotvornost cjepiva u svih ispitanika	48
5.3.2. Djelotvornost cjepiva prema dobnim skupinama	50
5.3.3. Djelotvornost cjepiva u rizičnih ispitanika	53
5.3.4. Djelotvornost cjepiva prema tipu cjepiva	54
6. RASPRAVA	56
7. ZAKLJUČAK	67
8. KRATKI SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU	69

9. SUMMARY	70
10. LITERATURA.....	71
11. BIOGRAFIJA.....	84
12. PRILOG 1	87

POPIS OZNAKA I KRATICA

HA	hemaglutinin
NA	neuraminidaza
SZO	Svjetska zdravstvena organizacija
NP	nukleokapsidni protein
M1	matriksni protein: M1 tvori matricu isključivo kod virusa influence A
M2	M2 protein, djeluje kao pumpa ionskih kanala
EMA	engl. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products
HI	inhibicija hemaglutinacije
SRH	engl. serial radial haemolysis (serijska radijalna hemoliza)
SRID	engl. single radial immunodiffusion (jednosmjerna radijalna imunodifuzija)
FDA	engl. Food and Drug Administration
ACIP	engl. Advisory Committee on Immunization Practices
MMWR	engl. Morbidity and Mortality Weekly Report
RT-PCR	lančana reakcija polimeraze potpomognuta reverznom transkriptazom
ILI	engl. influenza-like illness (bolest slična gripi)
CI	engl. confidence interval (interval pouzdanosti)
RR	relativni rizik
VE	engl. vaccine effectiveness (djelotvornost cjepiva)
CDC	engl. Centers for Disease Control and Prevention
HZJZ	Hrvatski zavod za javno zdravstvo
OR	engl. odds ratio (omjer šansi)
DFA	engl. direct immunofluorescence assay (direktna imunofluorescencija)
p-vrijednost	empirijska vrijednost signifikantnosti kojom se mjeri vjerojatnost odbacivanja nul-hipoteze
IQR	engl. interquartile range

SD	standardna devijacija
ZZJZ	zavod za javno zdravstvo
PZZ	primarna zdravstvena zaštita
CNRL	engl. Community Network of Reference Laboratories for Human Influenza in Europe
N	broj ispitanika

1. UVOD I SVRHA RADA

1.1. Gripa

Epidemije gripe u ljudi uzrokuju dva tipa virusa influence: virus influence tip A i virus influence tip B. Virusi influence tipa A dijele se u podtipove, ovisno o površinskim antigenima virusa, hemaglutininu (HA) i neuraminidazi (NA). Podtipovi virusa influence A i virusi tipa B dalje se mogu podijeliti u skupine na temelju antigenskih sličnosti.

Površinski antigeni virusa influence tipa A i B, HA i NA, s vremenom se mijenjaju. Učestala promjena antigena, poznata pod nazivom antigenski *drift*, nastaje zbog nakupljanja točkastih mutacija RNA gena koji određuju HA i NA te dovodi do nastanka nove varijante virusa (1, 2). Upravo zbog antigenog *drifta* u populaciji uvijek postoji određen broj neimunih (osjetljivih) osoba te se javljaju epidemije. Ova česta promjena antigena virusa influence zahtijeva svake godine revidiranje sastava cjepiva i samo cijepljenje protiv sezonske gripe čini kompleksnim.

Povremeno dolazi i do antigenog *shifta* tj. miješanja čitavih segmenata RNA koji određuju cijele antigene (HA i NA) različitih virusa. Tada gripu uzrokuje novi virus influence tipa A s HA ili kombinacijom HA i NA koji ranije nije inficirao ljude (2). Novi virus influence tipa A, koji sadrži novi HA ili novu kombinaciju HA i NA uzrokuje pandemiju. Da bi došlo do pandemije, novi virus mora imati sposobnost izazivanja bolesti u ljudi, mora se među ljudima lako prenositi, a većina ljudi na njega nije imuna. Dolazi do brzog globalnog širenja infekcije i bolesti, pandemije, čemu danas pogoduje i intenzivniji međunarodni promet (3). Novi virus može biti i posljedica direktnog prenošenja virusa, sposobnog za brzu prilagodbu osjetljivom domaćinu, sa životinja na ljude. Karakteristike pandemija su da su one relativno rijetke i neočekivane te mogu biti povezane s većim pobolom i smrtnošću od epidemija sezonske gripe.

Epidemije gripe u različitim dijelovima svijeta pojavljuju se u različita godišnja doba. U zemljama umjerenog klimatskog pojasa, kao što je Hrvatska, epidemije započinju u kasnu jesen ili zimi i imaju svoj vrhunac u kasnu zimu. Sporadični slučajevi i grupiranja u ustanovama mogu se javiti u bilo koje doba godine, uključujući ljeto, no epidemije se javljaju sezonski. U tropskim zemljama sezonsko pojavljivanje je manje izraženo, izmjenjuju se epidemije i sporadične prijave bolesti tijekom cijele godine. U suptropskim zemljama poput Hong Konga u istoj godini postoje dva vrhunca aktivnosti gripe.

Epidemije traju 6 do 8 tjedana ili duže. Početak, vrhunac, trajanje i intenzitet pojedine sezone svake su godine značajno različiti. Ipak, sezone gripe u međupandemijskim godinama uvijek su manjeg intenziteta nego kad se pojavi pandemijski virus.

Nekoliko čimbenika određuje intenzitet epidemije i njezin učinak: veličina antigenske promjene virusa, virulencija, mogućnost prenošenja, imunost populacije i specifičnosti zahvaćenih skupina u populaciji.

U razdoblju od 1977. godine do 2010. godine u svijetu su cirkulirali sljedeći virusi influence: virus influence A(H1N1), virus influence A (H3N2) i virus influence B. Od 2001. godine sporadično se detektiraju i virusi influence A(H1N2) koji su nastali rekombinacijom virusa influence A(H3N2) i A(H1N1) (4). Smatra se da protutijela na A(H3N2) i A(H1N1) viruse stvorena nakon cijepljenja, štite i protiv A(H1N2) virusa (5).

U travnju 2009. godine zabilježeni su prvi slučajevi infekcije ljudi novim virusom influence A(H1N1)pdm09 koji je do lipnja 2009. godine uzrokovao pandemiju (6, 7). Ovaj novi virus imao je jedinstvenu kombinaciju genskih segmenata, uključujući gene porijeklom od svinjskih, ptičjih i humanih virusa influence, a koji su cirkulirali među svinjama u Sjevernoj Americi i Europi (8). Protutijela na dotadašnje viruse influence A(H1N1) stvorena nakon prirodne infekcije ili cijepljenja nisu gotovo uopće pružala zaštitu protiv A(H1N1)pdm09 virusa. Ipak, prema američkim i europskim istraživanjima, 20% do 30% osoba starijih od 60 godina imalo je križno-reaktivna protutijela, vjerojatno stvorena nakon infekcije virusima influence A(H1N1) koji su cirkulirali na početku 20. stoljeća (9-11). Ova imunološka zapažanja potvrđena su epidemiološkim istraživanjima koja su ukazala da je većina teških oblika gripe i smrti tijekom pandemije 2009. godine bila prisutna u osoba mlađih od 65 godina (12-15). U Hrvatskoj je također zabilježeno da je pandemijska gripa bila znatno teža i smrtonosnija bolest, posebno u mladih odraslih osoba u dobi od 20 do 50 godina (16, 17).

Virusi influence A(H1N1)pdm09 nastavili su cirkulirati i u sezoni 2010.-11., odnosno bili su prevladavajući virusi te sezone u Europi i Hrvatskoj (18, 19). Prijašnji A(H1N1) virus istisnut je iz cirkulacije. U sezoni 2011.-12. dominantni virusi u cirkulaciji bili su A(H3N2), slični sojevima koji su cirkulirali zadnjih godina (20, 21).

Zadnjih godina u cirkulaciji su i dvije odvojene linije virusa influence B (Victoria i Yamagata) s djelomičnom antigenom podudarnošću (22).

Tijekom iste sezone, u različitim zemljama svijeta mogu u cirkulaciji dominirati različiti virusi. Tako je npr. u sezoni 2010.-11. u Europi dominirao A(H1N1)pdm9 virus influence,

dok je u Sjedinjenim Američkim Državama i Kanadi dominirao A(H3N2) virus influence (19).

1.2. Cijepljenje protiv gripe

Cijepljenje protiv gripe osnovna je strategija u prevenciji i suzbijanju sezonske i pandemijske gripe zadnjih 60 godina (22, 23). Osnovni cilj cijepljenja protiv gripe je zaštita osjetljivih pojedinaca, a ne toliko postizanje kolektivnog imuniteta i smanjenje prijenosa infekcije u zajednici te se stoga preporučuje cijepljenje tzv. rizičnim skupinama. Cijepiti protiv gripe treba svake godine zbog učestalih stvaranja novih antigenskih varijanti, posljedične promjene sastava cjepiva i slabljenja imuniteta u godini nakon cijepljenja (24-26). Od 1978. godine cjepiva su većinom trovalentna i sadrže viruse influence A podtipove A(H1N1) i A(H3N2) te virus influence tip B (5). Tijekom 90-tih godina prošlog stoljeća virusi influence B razdvojili su se u dvije antigeno različite linije (27). To je dovelo do primjene četverovalentnog cjepiva u nekim zemljama, koje uz A(H3N2) i A(H1N1) viruse, sadrži i dva soja virusa B (svaki soj iz jedne linije virusa B).

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) svake godine donosi preporuku za sastav sezonskog cjepiva protiv gripe, odnosno koje sojeve virusa influence uvrstiti u cjepivo, a na temelju podataka koje prikuplja od mreže viroloških laboratorija koji kontinuirano prate cirkulirajuće viruse. Virološki laboratoriji diljem svijeta utvrđuju postoje li značajne antigenske promjene HA cirkulirajućih virusa. Ista mreža laboratorija SZO prikuplja izolate virusa koji se koriste kao cjepni virusi. Preporuka o sastavu cjepiva za sjevernu hemisferu donosi se u veljači kako bi proizvođači do jeseni stigli proizvesti potrebne količine cjepiva. Cijepljenje na sjevernoj hemisferi obično počinje u listopadu i većim dijelom prestaje u prosincu. Prema preporuci SZO iz veljače 2010. godine, sastav sezonskog inaktiviranog cjepiva protiv gripe za sezonu 2010.-11. bio je sljedeći: A/California/07/2009 (H1 podtip), A/Perth/16/2009 (H3 podtip) i B/Brisbane 60/2008 virusi (28).

Virusi influence za proizvodnju antigena za cjepivo uglavnom se uzgajaju na oplodjenim kokošnjim jajima, no cjepiva za komercijalnu primjenu proizvode se i uzgojem virusa na staničnim kulturama sisavaca (Madin-Darby stanice psećjeg bubrega (MDCK) ili Vero stanice) (29, 30). Uzgojeni virusi influence inaktiviraju se formalinom ili β -propiolaktinom, a metodama purifikacije smanjuje se količina nevirusnih proteina i drugih sastojaka uvedenih tijekom procesa proizvodnje. Od 70-tih godina 20. stoljeća većinom se proizvode

fragmentirana cjepiva dobivena cijepanjem virusne lipidne ovojnice uz korištenje otapala (kao što su eter ili detergentski). Otapanjem ili cijepanjem lipidne ovojnice virusa vrši se inaktivacija virusa, zadržava se imunogenost i smanjuje reaktogenost cjepiva. Kako bi se dodatno smanjila količina virusnih proteina (posebno matriksni protein i nukleokapsidni protein) može se provesti dodatna purifikacija, odnosno dodatni fizikalni postupci čime se dobivaju podjedinična cjepiva ili pročišćeni pripravci površinskih antigena. Pročišćena cjepiva koja sadrže samo HA i NA virusa moguće je proizvesti i rekombinantnom DNA tehnologijom (31).

Cijepljenje protiv gripe primarno potiče stvaranje protutijela protiv glavnih površinskih glikoproteina, HA i NA, mada u nekim slučajevima, dolazi i do stvaranja protutijela i na nukleokapsidni protein (NP) i matriksni protein (M1). Imunosni odgovor na M2 proteine se ispituje, no njegov doprinos zaštiti protiv gripe čini se puno manji nego onaj protutijela usmjerenih direktno na HA (32).

Stoga se imunogenost cjepiva rutinski procjenjuje određivanjem titra protutijela na HA reakcijom inhibicije hemaglutinacije (33) ili testom neutralizacije, tako da se specifična imunost usmjerena na druge antigene virusa influence zanemaruje.

U skladu s time, pri godišnjoj obnovi registracije sezonskog cjepiva protiv gripe, EMA (engl. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) je zahtijevala od proizvođača samo dokaz da cjepivo potiče stvaranje protutijela na HA sojeva virusa influence koji se nalaze u cjepivu (34). To je bilo do određene mjere opravdano s obzirom na to da se u kliničkim istraživanjima utvrdilo da razina protutijela na HA donekle korelira s kliničkom zaštitom od gripe (35, 36). Međutim korelacija zaštite bila je dobro opisana za određene skupine stanovništva, dok za druge nije (npr. za osjetljive skupine). Osim toga, testovi za procjenu imunogenosti cjepiva, inhibicija hemaglutinacije (HI) i serijska radijalna hemoliza (SRH) nisu standardizirani i postoje razlike u procjeni između različitih laboratorija.

Kad se govori o imunosnim korelatima zaštite, soj-specifična protutijela na HA primarni su medijator zaštite od infekcije i kliničke bolesti, dok su protutijela na NA zaslužna za blokiranje otpuštanja virusa iz inficiranih stanica i mogu ublažiti bolest odstranjivanjem virusa (35). Stanični imunosni odgovor ($CD4^+$ i $CD8^+$ limfociti T) ima važnu ulogu i čini se da za razliku od humoralnog odgovora koji je specifičan za soj, ima veću križnu reaktivnost na različite podtipove, prepoznajući bolje očuvane epitope na površini proteina ili unutarnjih virusnih proteina. $CD4^+$ limfociti T pomažu humoralnom odgovoru i indukciji $CD8^+$ limfocita T, a $CD8^+$ citotoksični limfociti T (CTLs) olakšavaju odstranjivanje virusa i oporavak od

infekcije (37). Humoralni odgovor na inaktivirana cjepiva istražen je puno bolje nego stanični imunski odgovor, ali je poznato da stanični imunski odgovor ovisi osim o tipu cjepiva i o dobi te imunosti osobe prije cijepljenja. Cijepljenje zdravih odraslih osoba inaktiviranim cjepivom od cijelog virusa potaklo je snažan odgovor citotoksičnih limfocita T dok je odgovor bio slab nakon imunizacije podjediničnim cjepivom (37, 38). Također podaci upućuju da bi stanični odgovor mogao imati važnu ulogu u zaštiti od gripe starijih osoba (39). Postoje istraživanja koja preispituju vrijednost zaštitnog titra protutijela na HA kao korelata zaštite protiv gripe. Naime, u osoba koje su cijepljene i u kojih su nakon cijepljenja dokazani zaštitni titrovi, do infekcije ipak dođe, što sugerira da je nedostatan stanični odgovor ili da nema dovoljno protutijela usmjerenih na druge antigene virusa influence (40).

Pandemija 2009. godine potakla je preispitivanje dotadašnje prakse u Europi: naime nedostajali su serološki podaci temeljem kojih bi se dala jasna preporuka o načinu primjene i dozi cjepiva protiv pandemijske gripe za različite skupine stanovništva. Također utvrdilo se da testovi za određivanje sadržaja antigena u serijama cjepiva (jednosmjerna radijalna imunodifuzija, SRID, engl. single radial immunodiffusion) nisu standardizirani te rezultati nisu dovoljno pouzdani.

Stoga je EMA 2011. godine predložila reviziju preduvjeta za registraciju cjepiva protiv gripe (41). 2014. godine je povukla do tada postojeće preduvjete (42) i predložila nove preduvjete u srpnju 2014. godine (43). EMA je pojasnila da rezultati kliničkih istraživanja provedenih na malom uzorku ispitanika, kakva se zahtijevaju prilikom godišnje obnove registracije cjepiva protiv gripe, nisu dovoljno informativni u smislu procjene učinkovitosti i sigurnosti cjepiva. Takav je zaključak i drugih istraživanja (44). U novom prijedlogu EMA zahtijeva širu procjenu imunskog odgovora, predlaže evaluaciju serološkog testiranja i standardizaciju metoda, istraživanje korelata zaštite protiv gripe te se zahtijeva od proizvođača pri godišnjoj obnovi registracije provesti studije djelotvornosti cjepiva kao i studije sigurnosti i reaktogenosti novih sojeva te dati podatke za različite skupine stanovništva.

Sigurno je da je djelotvornost istog cjepiva, u smislu zaštite od gripe, u osoba različitih karakteristika različita. Dob, razina već postojećih specifičnih protutijela i zdravstveno stanje čimbenici su koji određuju odgovor protutijela (humoralnu imunost) nakon cijepljenja protiv gripe (5).

U zdrave osobe koja se cijepi, a koja je ranije bila u kontaktu s istim sojem virusa influence, odnosno ima već postojeća križno-reaktivna protutijela, stvaranje protutijela potaknutih cjepivom doseže svoj vrhunac za 2 tjedna nakon cijepljenja, no ukoliko se radi o osobi koja

ranije nije bila u kontaktu s virusom influence ili ukoliko se radi o starijoj osobi, imunosni odgovor na cjepivo može kasniti te se vrhunac razine specifičnih protutijela dosiže tek za 4 ili više tjedana (45, 46).

Starije osobe imaju niži titar protutijela na HA (47). Djeca do 9 godina starosti i imunosno naivne osobe da bi postigli optimalan odgovor protutijela trebaju 2 doze inaktiviranog cjepiva (48, 49). To je utvrđeno kliničkim istraživanjima još krajem 70-tih godina kad je A(H1N1) virus influence ponovno počeo cirkulirati (50, 51, 52). Zhu i suradnici 2009. godine došli su do sličnih rezultata, tj. druga doza cjepiva protiv A(H1N1)pdm virusa influence u djece mlađe od 9 godina dovela je do veće stope serokonverzije i više razine protutijela (53). Autor navodi da odluka o tome da li dati drugu dozu cjepiva ovisi o epidemiološkoj situaciji podsjetivši da je A(H1N1)pdm09 virus influence u mlađim dobnim skupinama uzrokovao značajan morbiditet i mortalitet.

Imunogenost cjepiva pokušava se povećati na nekoliko načina: povećanjem doze (na način da se primijeni druga doza cjepiva ili da se poveća sadržaj antigena u jednoj dozi cjepiva), dodavanjem adjuvansa u cjepivo ili promjenom načina primjene cjepiva (npr. cjepiva za intradermalnu primjenu, intranazalnu primjenu ili oralna cjepiva). Danas jedna doza inaktiviranog neadjuvantiranog cjepiva za intramuskularnu primjenu u osoba starijih od 3 godine sadrži 15 µg HA pojedinačnog soja virusa influence, a za djecu do 3 godina starosti 7,5 µg HA po soju virusa influence. 2009. godine Food and Drug Administration (FDA) je odobrila za osobe u dobi 65 godina i starije cjepivo sa većim sadržajem HA (60 µg po dozi) na temelju kliničkih istraživanja koja su pokazala višu imunogenost ovih cjepiva (54, 55, 56). Međutim, za sada nije poznato hoće li ova cjepiva postići i bolju zaštitu protiv gripe te Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) u svom Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) izvještaju 2013. godine ne daje prednost ovom cjepivu u odnosu na standardna cjepiva (57).

Cjepiva za intradermalnu primjenu s manjim sadržajem antigena postižu sličan imunosni odgovor kao cjepiva za intramuskularnu primjenu. Za sada nema podataka da se viša imunogenost ovih cjepiva kao i viša imunogenost adjuvantiranih cjepiva očituje u boljoj kliničkoj zaštiti od bolesti.

Treba napomenuti da odluka o doziranju treba biti uravnotežena uzimajući u obzir da će veća doza cjepiva u pojedinca povisiti imunosni odgovor u tog pojedinca, no s druge strane primjena manje doze u pojedinca omogućit će procijepljivanje više osoba što će do određene

mjere osigurati kolektivni imunitet a ujedno će i smanjiti šansu pojave neželjenih reakcija na cjepivo.

1.3. Učinkovitost i djelotvornost cjepiva protiv gripe

Učinkovitost cjepiva protiv gripe definira se kao sprečavanje gripe u ispitanika cijepljenih protiv gripe u kontroliranim kliničkim istraživanjima dok se djelotvornost cjepiva definira kao sprečavanje gripe u cijepljenih osoba u populaciji, znači u nekontroliranim, terenskim uvjetima.

Rezultati različitih istraživanja učinkovitosti i djelotvornosti cjepiva protiv gripe značajno se razlikuju jer ovise o dobi i stanju imunosnog sustava cijepljenih osoba, stupnju podudaranja virusa u cjepivu s onima u cirkulaciji, o dizajnu studije i o specifičnosti mjerenog ishoda (klinički utvrđena gripa, serološki potvrđena gripa, lančanom reakcijom polimeraze potpomognutom reverznom transkriptazom (RT-PCR) ili kultivacijom potvrđena gripa, pneumonija, hospitalizacija, mortalitet itd.). Mjesto istraživanja može imati značajan utjecaj na rezultate studije, jer aktivnost (intenzitet) gripe i sojevi koji prevladavaju u cirkulaciji mogu biti značajno različiti na različitim lokacijama. Kad se i izabere u istraživanju kao ishod laboratorijski potvrđena gripa, osjetljivost dijagnostičkog testa za utvrđivanje virusa utječe također na rezultat istraživanja učinkovitosti i djelotvornosti (5, 21).

U sezonama gripe kad podudaranje cjepnih virusa i virusa u cirkulaciji nije bilo dobro, učinkovitost cjepiva bila je niža no i dalje je cjepivo pružalo značajnu zaštitu (49, 58).

Osterholm u svojoj meta-analizi navodi da iako procjena djelotvornosti cjepiva protiv gripe ovisi o antigenskom podudaranju, u sezonama kad su dominirali virusi s antigenskim *driftom*, rezultati randomiziranih studija učinkovitosti cjepiva bili su različiti (23). Zadnjih se godina sve više preispituju kriteriji na temelju kojih se procijenjuje podudaranje virusa u cirkulaciji i onih u cjepivu jer su neki istraživači u nekoliko sezona zamijetili da sama karakterizacija virusa inhibicijom hemaglutinacije nije otkrila nepodudaranje cirkulirajućih i cjepnih sojeva, a epidemiološke procjene djelotvornosti cjepiva sugerirale su nisku djelotvornost (59, 60).

Naglašava se da je cjepivom potaknut imunosni odgovor u ljudi kompleksni mehanizam koji ovisi o već postojećim protutijelima koja mogu dovesti do pozitivne ili negativne interakcije ovisno o antigenskoj distanci komponenti cjepiva i cirkulirajućih virusa. Smith i suradnici su tako ponudili hipotezu da velika antigenska razlika (distanca) između cjepiva u sezoni 1 i 2 između cjepiva u sezoni 1 i epidemijskog soja u sezoni 2 značajno povećavaju rizik od

infekcije među osobama koje su ponovno cijepljene u usporedbi s onima koje su primile cjepivo samo u sezoni 2 (61). Stoga svi ovi autori ističu da je važno prikupljati podatke o cijepljenju protiv gripe tijekom više uzastopnih sezona, epidemiološke karakteristike oboljelih i udružiti te podatke s virološkim i filogenetskim analizama (59).

Učinkovitost i djelotvornost cjepiva u pravilu je viša ukoliko je ishod istraživanja specifičniji (npr. prevencija laboratorijski potvrđene gripe ishod je veće specifičnosti nego prevencija klinički utvrđene gripe) (62, 63, 64).

PCR se smatra optimalnom metodom za laboratorijsku potvrdu infekcije virusom influence u istraživanjima učinkovitosti i djelotvornosti cjepiva (65). Naime, RT-PCR danas je zlatni standard za dijagnostiku gripe i osjetljivija je metoda od kultivacije virusa (66).

Dizajn istraživanja ima također važan utjecaj na procjenu učinkovitosti i djelotvornosti cjepiva (67). Najvišu razinu vrijednosti imaju rezultati randomiziranih kontroliranih kliničkih istraživanja u kojima se kao ishod mjeri laboratorijski potvrđena gripa, no provođenje takvih istraživanja etički je upitno, jer se postavlja pitanje možemo li uskratiti cijepljenje skupinama stanovništva kojima se cijepljenje protiv gripe već dugi niz godina preporučuje. Opservacijske studije u kojima se prati ishod manje specifičnosti podložne su unošenju sistematske pogreške (engl. bias) koji je teško ukloniti tijekom analize. Primjerice, opservacijska studija kojom se želi utvrditi smanjuje li cijepljenje protiv gripe ukupni mortalitet može biti pod utjecajem sistematske pogreške ako su ispitanici boljeg zdravlja skloniji zatražiti cijepljenje (zbog zdravog stila života općenito) ili ako osobe teško narušenog zdravstvenog stanja s lošom prognozom, imaju manju šansu biti cijepljeni protiv gripe jer tako odluče oni sami ili njihovi liječnici. Takvo bolje početno zdravstveno stanje skupine cijepljenih može dovesti do precijenjivanja djelotvornosti cjepiva, odnosno procjena dobivena istraživanjem nerealno je visoka u odnosu na stvarnu djelotvornost cjepiva. Radi se o pozitivnom djelovanju čimbenika posredne povezanosti (engl. confounding) koje nastaje uslijed tzv. efekta zdravog cijepljenika. Odabirom test-negativnog dizajna (osobe sa simptomima koji imaju negativan laboratorijski nalaz) smanjuje se sistematska pogreška nastala zbog razlika u stilu traženja medicinske pomoći (engl. medical seeking behaviour) cijepljenih i necijepljenih osoba. Naime, pretpostavlja se da se osobe koje češće odlaze liječniku češće i cijepuju protiv gripe, a ujedno je i veća vjerojatnost da će te osobe zatražiti liječničku pomoć ako razviju simptome slične gripi. Tako će cijepljene osobe sa simptomima gripe imati veću šansu biti uključene u klasične slučaj-kontrola (engl. case-control) studije od cijepljenih osoba bez simptoma gripe. Ta bi razlika dovela do nerealno niske procjene djelotvornosti cjepiva protiv gripe, tj. djelotvornost

bi bila podcijenjena. Npr. djelotvornost cjepiva u tri sezone za redom (2004.-05., 2005.-06. i 2006.-07.) bila je 10%, 21% i 52% korištenjem test-negativne metode za razliku od djelotvornosti 5%, 5% i 37% korištenjem „tradicionalnih“ kontrola, znači osoba bez simptoma (58).

Incidencija gripe razlikuje se svake godine i snaga manjih istraživanja u sezonama niske incidencije može biti nedovoljna da bi se detektirala značajna djelotvornost cjepiva (68). Upravo zbog godišnjih razlika u incidenciji i godišnjih razlika u podudaranju cjepnih i cirkulirajućih virusa, preporuča se provođenje studija djelotvornosti cjepiva iz godine u godinu.

1.3.1. Učinkovitost i djelotvornost u odraslih osoba do 65 godina starosti

Učinkovitost u sezonama dobrog podudaranja cjepnih i cirkulirajućih virusa kreće se od 70% do 90%. Čak i kad podudaranje nije dobro, te se djelotvornost cjepiva u prevenciji gripe smanjuje, ostaju druge koristi cijepljenja kao što je smanjenje broja hospitalizacija zbog komplikacija (5). Osterholm i suradnici u meta-analizi, temeljenoj na 10 randomiziranih kliničkih istraživanja, zaključuju da je učinkovitost cjepiva u sprječavanju gripe potvrđene RT-PCR-om ili kultivacijom u mladih odraslih osoba u dobi od 18 do 65 godina 59% (95%CI: 51%-67%) (23). Što se tiče djelotvornosti cjepiva, navedena meta-analiza, zbog velikih razlika između sezona gripe, nije mogla doći do jedinstvene procjene. Jefferson i suradnici u svojoj meta-analizi 2010. godine procjenjuju da je učinkovitost cjepiva u sprečavanju laboratorijski potvrđene gripe u zdravih osoba u dobi od 16 do 65 godina 73% (95%CI: 54%-84%) u sezonama dobrog podudaranja cjepnih virusa i onih u cirkulaciji (bez preciznog definiranja što se smatra dobrim podudaranjem). U sezonama slabijeg podudaranja, učinkovitost je 44% (95%CI: 23%-59%), a kad se mjere klinički ishodi kao bolest slična gripi (engl. ILI, influenza-like illness) učinkovitost iznosi 30% (95%CI: 17%-41%) (69).

1.3.2. Učinkovitost i djelotvornost u starijih osoba

Usprkos brojnim, uglavnom opservacijskim istraživanjima, učinak cijepljenja protiv gripe u starijih osoba nije do kraja razjašnjen (5). U tim nerandomiziranim istraživanjima često je korišten ishod male specifičnosti (npr. sprečavanje pneumonija, hospitalizacija, smanjenje mortaliteta) i nisu korištene metode eliminacije sistematskih pogrešaka tako da se rezultati smatraju nepouzdanima (5, 57, 70). U svom izvješću 2012. godine SZO navodi da je

učinkovitost inaktiviranih cjepiva protiv gripe u sprečavanju gripe u starijih osoba (65 i više godina) skromna (70). Zbirna (engl. pooled) procjena temeljena na rezultatima triju randomiziranih kliničkih istraživanja govori da je učinkovitost cjepiva protiv gripe u sprečavanju laboratorijski potvrđene gripe 58% (95%CI: 34% -73%) (70). U randomiziranom kliničkom istraživanju provedenom u sezoni dobrog podudaranja cjepnih i cirkulirajućih virusa (1991.-92.), učinkovitost cjepiva protiv serološki potvrđene gripe u starijih od 60 godina, bez obzira na njihovo zdravstveno stanje, bila je 58% (95%CI: 26% -77%) (71).

Zbog poznate činjenica da starije osobe imunosno slabije odgovaraju na cjepivo, a i zbog sve većeg udjela osoba starije dobi u stanovništvu, procjena učinka cjepiva u toj dobi je izuzetno važna.

1.3.3. Učinkovitost i djelotvornost u osoba s kroničnim bolestima

Rezultati istraživanja ukazuju da je djelotvornost cjepiva u osoba s kroničnim bolestima niža nego u zdravih odraslih osoba. Randomizirana kontrolirana studija u odraslih s kroničnom opstruktivnom plućnom bolesti (medijan dobi: 68 godina) provedena je u Tajlandu u sezoni dobrog podudaranja cjepnih virusa i cirkulirajućih virusa te je učinkovitost u sprečavanju laboratorijski potvrđene gripe iznosila 76% (95%CI: 32%-93%) (72).

U meta-analizi autori Cates i suradnici pak zaključuju da ne postoje jasni dokazi da osobe koje boluju od astme imaju koristi od cijepljenja protiv gripe (73).

U osoba s kardiovaskularnim bolestima učinkovitost cjepiva protiv gripe, prema meta-analizi autora Warren-Gasha i suradnika, u smislu sprečavanja akutnog infarkta miokarda ili kardijalne smrti iznosila je 49% (95%CI: -76%-85%) (74).

Novija istraživanja, u kojima se nastoje neutralizirati čimbenici posredne povezanosti, navode da su rezultati djelotvornosti cjepiva u sprečavanju nespecifičnih ishoda (npr. smanjenje mortaliteta) u osoba s kroničnim bolestima, dobiveni ranijim istraživanjima nepouzdana, tj. djelotvornosti cjepiva su precijenjene (75).

Imunokompromitirane osobe također imaju slabiji imunosni odgovor na cijepljenje i općenito je djelotvornost cjepiva u tih osoba niža. Iako je razina dokaza niska, SZO je 2012. godine u svom izvješću zaključila da inaktivirano cjepivo jest učinkovito u HIV zaraženih osoba, s učinkovitošću od 75,5% (95%CI: 9,2-95,6%) (70). Nekadašnje dvojbe vezane uz sigurnost cjepiva protiv gripe u HIV zaraženih osoba u potpunosti su odbačene (5).

Imunosni odgovor u osoba s transplantiranim solidnim organima različit je ovisno o organu koji se presađuje, relativno dobar nakon transplantacije srca i bubrega, slabiji nakon transplantacije jetre. Nažalost nema niti jedne kontrolirane studije djelotvornosti cjepiva protiv gripe u teško imunokompromitiranih bolesnika, kao što su bolesnici s transplantiranim solidnim organima ili transplantiranom koštanom srži (5). Rezultati sustavnog pregleda kojim je obuhvaćena jedna randomizirana klinička studija i tri opservacijske studije s ukupno 2124 ispitanika sugeriraju niži mortalitet u ispitanika cijepljenih cjepivom protiv gripe te podupiru cijepljenje odraslih osoba na kemoterapiji zbog karcinoma (76).

1.3.4. Učinkovitost i djelotvornost u djece

Rezultati istraživanja učinkovitosti i djelotvornosti u djece razlikuju se ovisno o dizajnu studije i sezoni, no dokazi da je cjepivo umjerene djelotvornosti ipak postoje, posebice za djecu stariju od 3 godine (57, 77, 78). Randomizirana, dvostruko-slijepa, placebom kontrolirana studija u djece dobi 6 do 24 mjeseca navodi učinkovitost od 66% (95%CI: 34%-82%) u sprečavanju gripe potvrđene kultivacijom tijekom sezone 1999.-2000., no tijekom sezone 2000.-01. redukcija potvrđene gripe nije bila značajna, jer je intenzitet gripe bio puno manji (incidencija 3% u odnosu na 16% tijekom 1999.-2000.) (79).

U vrlo male djece djelotvornost inaktiviranog cjepiva čini se niža nego u starije djece (77, 80). Sustavni pregled objavljenih istraživanja iz 2012. godine procjenjuje da je djelotvornost cjepiva protiv gripe u djece dobi od 6 mjeseci do 24 mjeseca 40% (95%CI: 6%-61%), a u djece od 24 mjeseca starosti do 60 mjeseca starosti 60% (95%CI: 30%-78%) (77).

Prema rezultatima više istraživanja, djeca koja nisu nikada ranije cijepljena protiv gripe, trebaju primiti dvije doze inaktiviranog neadjuvantiranog cjepiva. U retrospektivno kohortno istraživanje autori Ritzwoller i suradnici uključili su djecu u dobi od 6 mjeseci do 24 mjeseca i dobi od 6 mjeseci do 8 godina te uspoređivali djelotvornost 1 doze naspram 2 doze inaktiviranog cjepiva protiv gripe u sprečavanju ILI te u sprečavanju pneumonije i gripe. U sezoni lošeg podudaranja, u djece u dobi 6-24 mjeseci koja su primila 2 doze, cjepivo je imalo djelotvornost od 25% u sprečavanju ILI i 49% u sprečavanju pneumonija i gripe. Jedna doza cjepiva u djece iste dobi nije bila djelotvorna u sprečavanju ILI, a u sprečavanju pneumonije i gripe bila je niske djelotvornosti (22%) (49). I druga su istraživanja potvrdila da je djeci mlađoj od 9 godina potrebno dati 2 doze cjepiva protiv gripe (48). Na temelju ovih

istraživanja postoji preporuka da djeca u dobi od 6 mjeseci do 9 godina, koja se cijepu prvi puta, trebaju primiti 2 doze inaktiviranog cjepiva s razmakom od najmanje 4 tjedna (57).

U Europi (Njemačka i Finska) nedavno je provedeno randomizirano istraživanje u 4707 djece u dobi od 6 mjeseci do 6 godina s ciljem usporedbe učinkovitosti inaktiviranog neadjuvantiranog cjepiva, inaktiviranog adjuvantiranog cjepiva (MF59) i kontrolnog cjepiva (primjenjeno je konjugirano meningokokno ili cjepivo protiv krpeljnog meningoencefalitisa) u sprečavanju gripe potvrđene RT-PCR metodom. Tijekom dviju sezona (2007.-08. i 2008.-09.), učinkovitost inaktiviranog neadjuvantiranog cjepiva u usporedbi s kontrolnim cjepivom bila je 43% (95%CI: 15%-61%), a adjuvantiranog cjepiva 86% (95%CI: 74%-93%) (80). U sezoni 2010.-11. u SAD-u cjepni sojevi podudarali su se sa sva tri cirkulirajuća soja virusa influence te je djelotvornost cjepiva u djece u sprečavanju RT-PCR-om potvrđene gripe bila slična onoj u svim ostalim dobnim skupinama (sve dobne skupine: 60%; 95%CI: 54%-66%; u dobi 6 mjeseci do 2 godine: 58%; 95%CI: 31%-74%; u djece dobi od 3 godine do 8 godina: 69%; 95%CI: 56%-77%) (81).

Iako već dugi niz godina postoje preporuke da se imunokompromitirana djeca i djeca s kroničnim bolestima cijepu protiv gripe, nedostaju rezultati randomiziranih placebom kontroliranih klinička istraživanja. Rezultati nerandomiziranih istraživanja su oprečni tako da povezanost cijepjenja i prevencije egzacerbacije astme nije jasno utvrđena. Slično je i sa povezanošću cijepjenja i prevencijom upale srednjeg uha (57).

1.3.5. Učinkovitost i djelotvornost u trudnica i novorođenčadi

Cijepljenjem trudnice stječu zaštitni titar protutijela, a dodatna je korist pasivno prenošenje protutijela novorođenčetu (5, 82). U Bangladešu je provedeno randomizirano kontrolirano istraživanje u kojem su se žene u trećem tromjesečju trudnoće cijepile inaktiviranim cjepivom koje je smanjilo respiratornu bolest sa vrućicom za 29% (95%CI: 6,9%-45,7%) u dojenčadi, a u njihovih majki za 36% (95%CI: 3,7%-57,2%) u prvih 6 mjeseci nakon poroda, uspoređujući ih sa trudnicama koje su primile 23-valentno pneumokokno polisaharidno cjepivo. Dodatno, dojenčad je imala smanjenje za 63% (95%CI: 5%-85%) laboratorijski potvrđene gripe u prvih 6 mjeseci života (83). Eick i suradnici 2011. objavili su rezultate svog prospektivnog kohortnog istraživanja u kojem je cijepljenje trudnica reduciralo rizik infekcije u dojenčadi do 6 mjeseci starosti (RR 0,59; 95%CI: 0,37-0,93) i hospitalizacije zbog ILI (RR 0,61; 95%CI:

0,45-0,84) (84). Istraživanja koja su nešto ranije provedena nisu pokazala takvu redukciju rizika, tako da su rezultati pomalo oprečni.

Cijepljenje se ne preporučuje dojenčadi do 6 mjeseci starosti iako su nedavna istraživanja pokazala da je imunski odgovor u dojenčadi relativno dobar (85).

1.4. Trajanje imuniteta i zaštite nakon cijepljenja protiv gripe

Iako trajanje zaštite nakon cijepljenja protiv gripe nije jasno određeno i prema nekim kliničkim istraživanjima u zdravih odraslih osoba traje i duže od godinu dana nakon cijepljenja, preporučuje se cijepiti svake godine jer se obično jedan ili dva antigena virusa u cjepivu promijene, a pad titra protutijela u serumu tijekom godine dana jasno je dokazan (86, 87). Za razliku od zaštite stečene cijepljenjem koja je relativno kratkog vijeka, imunost nakon prirodne infekcije traje desetljećima. To nam potvrđuju već ranije navedena istraživanja tijekom pandemije 2009. godine koja su pokazala da je 20% do 30% osoba starijih od 60 godina imalo križno-reaktivna protutijela na pandemijski soj, najvjerojatnije zbog ekspozicije antigenski sličnim sojevima prije 50 i više godina i moguće zbog kasnijeg poticanja imunosti sličnim sojevima (9-11). Epidemiološki podaci o pandemiji sugeriraju također očuvanu imunost u starijih osoba s obzirom da je opterećenje pandemijskom gripom u starijih osoba bilo iznenađujuće nisko, u usporedbi sa sezonskom gripom (12-15).

1.5. Svrha rada

Gripa je, s javnozdravstvenog stajališta, jedna od najznačajnijih zaraznih bolesti i predstavlja stalan medicinski izazov. Procjenjuje se da gripa uzrokuje 5 milijuna teških oboljenja godišnje u svijetu, odnosno 250 000 do 500 000 smrti. Procjena godišnjeg troška epidemije gripe u Europskoj Uniji iznosi 27 milijardi eura (88). Cijepljenje, općenito govoreći, je jedna od najuspješnijih medicinskih intervencija. Međutim, zbog ranije navedenih karakteristika virusa influence, proizvodnja učinkovitog cjepiva protiv gripe nije jednostavna, a zbog različitih epidemioloških obilježja svaka sezona gripe je različita što je dodatan izazov sezonskom cjepivu u uspješnoj zaštiti osobe od bolesti te određene sezone. Osim razlika u sezonama gripe, postoje razlike i u osjetljivosti različitih populacija na virus influence unutar jedne sezone, preporuke o cijepljenju protiv gripe među zemljama se razlikuju, koriste se cjepiva različitih proizvođača, obuhvati cijepljenja su različiti, što sve čini jedinstvenost

epidemiološke situacije pojedine zemlje. Ne zna se kolika je razlika u djelotvornosti različitih tipova cjepiva i različitih proizvoda ovisno o proizvođaču.

Djelotvornost cjepiva protiv gripe samo djelomično korelira sa stupnjem podudaranja cjepnih sojeva virusa i cirkulirajućih sojeva virusa influence. Imunološki korelati zaštite nisu dobro definirani. Uz sve ove razlike i nepoznanice, dodatan izazov cijepljenju protiv gripe predstavlja i preporuka Europskog vijeća ministara iz 2009. godine da u svim zemljama članicama EU, do sezone gripe 2014.-15., cjepni obuhvat cjepivom protiv gripe u rizičnim skupinama bude 75%. U rizične skupine svrstavaju se osobe u dobi od 65 i više godina i osobe s kroničnim bolestima (kronične respiratorne i kardiovaskularne bolesti, kronične metaboličke bolesti, kronične bubrežne bolesti i bolesti jetre, kongenitalne ili stečene imunodeficijencije) (88). Međutim, usprkos preporuci, nakon pandemije 2009. godine, cjepni obuhvati su se u mnogim europskim zemljama, uključujući Hrvatsku, snizili. Kako bi se zadobilo povjerenje u programe cijepljenja, uključujući cijepljenje protiv gripe, preporuke treba temeljiti na rezultatima istraživanja, a stručnjaci trebaju nova znanja i oruđe kojima se bolje razumije djelovanje cjepiva.

Kako bi se bolje razumjela djelotvornost cjepiva protiv gripe, u Europi se potiču nezavisne procjene djelotvornosti cjepiva protiv gripe (89). Tako npr. Nizozemska već nekoliko sezona provodi test-negativne slučaj-kontrola studije procjene djelotvornosti cjepiva protiv gripe u sprečavanju laboratorijski potvrđene gripe (90). U sklopu I-MOVE projekta (europskog programa praćenja djelotvornosti sezonskog i pandemijskog cjepiva protiv gripe), od sezone 2008.-09. rade se procjene djelotvornosti cjepiva. U sezoni 2008.-09. djelotvornost cjepiva (engl. vaccine effectiveness, VE) bila je 59,1% (95%CI: 15,3%-80,3%) u sprečavanju laboratorijski potvrđene gripe u osoba starijih od 65 godina, u sezoni 2009.-10. djelotvornost pandemijskog cjepiva u ukupnoj populaciji bila je 71,9% (95%CI: 45,6%-85,5%), a za ispitanike s kompletnim podacima 66,0% (95%CI: 23,9% -84,8%), djelotvornost sezonskog cjepiva 2009.-10. iznosila je 9,9% (95%CI: - 65,2% - 50,9%) (91, 92). Test-negativne slučaj-kontrola studije u pandemiji provedene su i u drugim zemljama i također su ukazale na zaštitnu djelotvornost pandemijskog cjepiva (93, 94).

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) još i od ranije provodi istraživanja kojima određuje djelotvornost sezonskog cjepiva protiv gripe (95). Većina istraživanja u SAD kojima se nastoje procijeniti dobrobiti cijepljenja protiv sezonske gripe jesu upravo opservacijske studije, zbog ograničenja koja u ovoj situaciji imaju klinička randomizirana istraživanja, posebice u osoba starijih od 65 godina.

U Hrvatskoj do sada nije provedeno opservacijsko istraživanje djelotvornosti cjepiva protiv sezonske gripe niti je primijenjena test-negativna slučaj-kontrola metoda. Sezona gripe 2010.-11., prva sezona nakon pandemije 2009. godine, epidemiološki gledano, vrlo je važna jer daje prve informacije o tome kako će se novi virus influence ponašati u nadolazećim sezonama. Nakon pandemije 2009. godine u cirkulaciji je nastavio dominirati novi pandemijski virus koji je već tijekom pandemije pokazivao drugačije karakteristike od virusa koji uzrokuje sezonsku gripu. U Hrvatskoj praćenje i nadzor nad gripom temelji se veći dugi niz godina na epidemiološkom prikupljanju prijava bolesti slične gripi i na virološkom praćenju.

Služba za epidemiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) u kojoj radim, prema Zakonu o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti, ima neupitno važnu ulogu u suzbijanju i sprečavanju zaraznih bolesti u Hrvatskoj, pa tako i gripe, praćenjem kretanja bolesti i predlaganjem, među ostalim preventivnim i protuepidemijskim mjerama, i cijepljenje (96). Služba za epidemiologiju HZJZ ima ključnu ulogu u nacionalnoj pripremljenosti za pandemijsku gripu (97).

Preporuke o cijepljenju donose se velikim dijelom na temelju epidemioloških podataka, procjena djelotvornosti cjepiva epidemiološkom metodom još je jedan od alata koji dovode do boljeg razumijevanja nadzora nad bolešću.

Stoga se u sezoni 2010.-11., sezoni nakon pandemije, koja je aktualizirala značaj gripe i važnost cijepljenja, pokrenulo ovo istraživanje procjene djelotvornosti cjepiva protiv gripe u sprečavanju sezonske gripe. Ovim istraživanjem dobit ćemo dodatan uvid u epidemiologiju gripe te prednosti i ograničenja korištenja ove metode. Provođenje ovakvih istraživanja tijekom sezonske gripe donosi iskustvo i znanja za buduće procjene djelotvornosti cjepiva protiv gripe, što postaje posebno važno u situaciji pandemije. U pandemiji važno je čim prije procijeniti koliko je cjepivo djelotvorno jer to omogućuje usmjeravanje i po potrebi korigiranje protuepidemijskih intervencija, odnosno donošenje ispravnih odluka. Drugim riječima, ako zaštita cjepivom nije u skladu s očekivanjima, osnažuju se i druge javnozdravstvene mjere s ciljem suzbijanja bolesti i zaštite ljudi.

2. HIPOTEZA

Cjepiva protiv gripe smanjuju vjerojatnost obolijevanja od gripe potvrđene PCR metodom u sezoni daljnje cirkulacije pandemijskog virusa.

3. CILJEVI RADA

Opći cilj: Utvrditi karakteristike oboljelih od bolesti slične gripi u sezoni gripe 2010.-11. čiji je uzorak poslan u Nacionalni laboratorij SZO za gripu radi RT-PCR dijagnostike.

Specifični ciljevi:

1. Procijeniti djelotvornost cjepiva protiv PCR-om potvrđene gripe u sezoni 2010.-11. test-negativnom slučaj-kontrola studijom.
2. Procijeniti djelotvornost cjepiva protiv PCR-om potvrđene gripe u sezoni 2010.-11. u određenim podskupinama (prema dobnim skupinama, rizičnim skupinama kojima se preporuča cijepljenje).
3. Utvrditi razliku u djelotvornosti neadjuvantiranog i adjuvantiranog cjepiva u dobi ispitanika 65 i više godina.

4. MATERIJALI I METODE

Služba za epidemiologiju HZJZ zaprima prijave gripe putem tjednih zbirnih izvješća o oboljelima od bolesti slične gripi što je određeno Zakonom o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti (NN 79/2007, 113/2008 i 43/2009) i Listi bolesti čije je sprečavanje i suzbijanje od interesa za Republiku Hrvatsku (NN 60/2014) (98, 99). Definicija bolesti koju koriste zemlje Europe, uključujući Hrvatsku, za prijavljivanje bolesti slične gripi je sljedeća: nagli početak simptoma i prisutan barem jedan od sljedeća četiri simptoma: povišena tjelesna temperatura, slabost, glavobolja, mijalgija i barem jedan od sljedeća tri respiratorna simptoma: kašalj, grlobolja, kratkoća daha (100).

U sezoni gripe 2010.-11. u Nacionalnom laboratoriju SZO za gripu pri Službi za mikrobiologiju HZJZ korištena je RT-PCR metoda s ciljem utvrđivanja virusa influence u respiratornim uzorcima oboljelih od ILI. Uzorci bolesnika s ILI obrađivani su u razdoblju od 14. prosinca 2010. do 1. lipnja 2011. godine.

Odluku o uzimanju uzorka bolesnika s ILI donosio je liječnik kojem se bolesnik obratio i kojeg je liječnik pregledao, uz jednu općenitu preporuku da se uzorci uzimaju od bolesnika s teškom kliničkom slikom. Stoga je većina uzoraka uzeta u bolnicama.

U HZJZ, u Nacionalnom laboratoriju SZO za gripu, nukleinska kiselina je izolirana iz respiratornih uzoraka transportiranih u virusnim transportnim medijima (Hanks). RNA je ekstrahirana putem automatiziranog sustava QIAextractor (QIAGEN). Metodom lančane reakcije polimeraze potpomognute reverznom transkriptazom (real-time RT-PCR) utvrdila se virusna RNA upotrebom single-tube RT-PCR kita prema uputama proizvođača (Invitrogen SuperScript™III Platinum® One-Step Quantitative Kit). Amplifikacija i detekcija su provedene s 7500 Real Time PCR System uređajem (Applied Biosystems).

U Nacionalnom laboratoriju SZO za gripu uz pristigle uzorke zabilježili su se određeni podaci i to kako slijedi: ime i prezime bolesnika, naziv ustanove gdje je uzorak uzet, uputna dijagnoza, dob ili godina rođenja bolesnika, spol i datum uzimanja uzorka. Rutinski se u laboratoriju zabilježio i datum inokulacije (obrade) uzorka te rezultat laboratorijske analize.

Podaci koji su bili zabilježeni u Nacionalnom laboratoriju SZO za gripu nisu bili dovoljni da bi se mogla procijeniti djelotvornost cjepiva, a jednako tako nisu bili dovoljni niti rutinski epidemiološki podaci Službe za epidemiologiju HZJZ.

Stoga su dostupni podaci iz Nacionalnog laboratorija SZO za gripu unešeni u posebnu bazu podataka Službe za epidemiologiju HZJZ, kreiranu za ovo istraživanje te su bili početni podaci od kojih je krenulo istraživanje djelotvornosti cjepiva.

Služba za epidemiologiju HZJZ za sezonu gripe 2010.-11. preporučila je cijepljenje protiv gripe prvenstveno sljedećim skupinama stanovništva: osobama u dobi 65 i više godina, osobama u dobi od 6 mjeseci ili starijima koji boluju od sljedećih kroničnih bolesti: kroničnih bolesti srca i pluća, kronične metaboličke bolesti (uključujući diabetes mellitus), kronične bolesti bubrega i jetre, hemoglobinopatije i imunosupresije. Dodatno, cijepljenje je bilo preporučeno i osobama s patološkom pretilošću, djeci i adolescentima (u dobi 6 mjeseci do 18 godina) na dugotrajnoj terapiji lijekovima koji sadrže acetilsalicilnu kiselinu, zdravstvenim djelatnicima, štićenicima ustanova za skrb i njegu (bez obzira na dob, uključujući djecu) i djelatnicima u takvim ustanovama. U skupinu kojoj se preporuča cijepljenje ubrajaju se i osobe koje žive u istom kućanstvu s osobama ili njeguju bolesnike kojima se cijepljenje protiv gripe preporučuje, ali se ne cijepi jer imaju kontraindikaciju za cijepljenje (101). Cijepljenje protiv gripe započelo je 12. studenog 2010. godine, cjepivom čiji je sastav odgovarao preporuci SZO za sjevernu hemisferu za sezonu 2010.-11. Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje osigurao je za potrebe cijepljenja protiv sezonske gripe: Fluimun® (neadjuvantirano podjedinično cjepivo, proizvođač Novartis i Imunološki zavod), za cijepljenje starijih od 36 mjeseci punom dozom, a cijepljenje djece od 6 do 36 mjeseci sa polovicom doze; Influvac® (neadjuvantirano podjedinično cjepivo, proizvođač Abbott), za cijepljenje starijih od 36 mjeseci punom dozom, a cijepljenje djece od 6 do 36 mjeseci sa polovicom doze; Fluad® (adjuvantirano s MF59C.1 podjedinično cjepivo, proizvođač Novartis i Imunološki zavod), za cijepljenje osoba u dobi 65 i više godina te Vaxigrip® Junior (neadjuvantirano fragmentirano cjepivo, proizvođač Sanofi Pasteur), za cijepljenje djece od 6 do 36 mjeseci starosti.

U ovom istraživanju koristila se test-negativna slučaj-kontrola metoda procjene djelotvornosti cjepiva protiv gripe u sprečavanju RT-PCR laboratorijski potvrđene gripe u osoba koje su se obratile liječniku. U slučaj-kontrola studiju uključuju se slučajevi (engl. cases) i njima slični kontrolni ispitanici (engl. controls) nakon čega se u obje skupine utvrđuje proporcija izloženih cijepljenju. Slučaj (gripe) je oboljeli s bolesti sličnoj gripi u kojeg je RT-PCR metodom laboratorijski potvrđen virus influence. Kontrolni ispitanik (kasnije se navodi kao kontrola) je oboljeli s bolesti sličnoj gripi u kojeg je rezultat RT-PCR metodom na gripu negativan. Smatra se da je prednost test-negativnog dizajna da kontrole imaju sličan stil traženja

medicinske pomoći kao i izvorna populacija iz koje dolaze slučajevi i time su takve kontrole reprezentativne u smislu cjepnih obuhvata izvorne populacije (osobe koje će vjerojatno otići liječniku ako razviju simptome bolesti slične gripi) (67).

Veličina uzorka određena je temeljem pretpostavke djelotvornosti cjepiva protiv gripe od 60% (OR, engl. odds ratio: 0,40) te pretpostavke da je cjepni obuhvat u izvornoj populaciji 11%, što je temeljeno na izvještajima o potrošnji cjepiva protiv sezonske gripe koje prikuplja Služba za epidemiologiju HZJZ, uz α pogrešku 0,05 i snagu istraživanja od 80%.

Od ukupnog broja ILI bolesnika čiji su respiratorni uzorci imali RT-PCR rezultat laboratorijske obrade, nasumično je odabran određen broj bolesnika putem tablice nasumičnih brojeva, a s ciljem da se odabere dovoljan broj ispitanika zbog inicijalne pretpostavke da se sve nasumično odabrane osobe neće uspjeti kontaktirati, odnosno njih 25%. Naime, u tom trenutku kontaktni podaci o bolesnicima nisu bili poznati, a još manje podaci o cijepljenju protiv gripe. Kako su se trebali, uz sam cjepni status, prikupiti i dodatni podaci važni za procjenu djelotvornosti cjepiva, bolesnike se telefonski kontaktiralo i primjenjen je strukturirani anketni upitnik (Prilog 1). Prilikom telefonskog kontakta, u uvodu strukturiranog anketnog upitnika, ispitanik je bio obaviješten o svrsi i ciljevima istraživanja, dana mu je jasna informacija da se u svakom trenutku može iz istraživanja povući. Dobrovoljnim odgovaranjem na postavljena pitanja strukturiranog anketnog upitnika ispitanik je istovremeno pristao sudjelovati u istraživanju. Osobni podaci ispitanika nisu se koristili izvan epidemiološke službe koja i inače ima uvid u identifikacijske podatke bolesnika zbog prevencije i nadzora nad zaraznim bolestima, a kako je propisano Zakonom o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti. Istraživanje je odobreno od Etičkog povjerenstva HZJZ (5. svibnja 2011.) i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta i svi ispitanici su prihvatili sudjelovanje putem usmenog pristanka.

Strukturiranim anketnim upitnikom putem telefona bili su prikupljeni sljedeći podaci: datum rođenja, spol, cjepni status cjepivom protiv gripe za sezonu 2010.-11. (uključujući mjesto cijepljenja te ime i prezime cjepitelja), vrijeme proteklo od cijepljenja do početka simptoma gripe, vrijeme proteklo od početka simptoma gripe do uzimanja uzorka za utvrđivanje virusa influence, podatak o hospitalizaciji, podatak o cijepljenju sezonskim i pandemijskim cjepivom protiv gripe prijašnje sezone (2009.-10.), komorbiditeti, trudnoća u žena, pušački status (nikada, prestanak prije više od godinu dana, aktivni pušač), podatak je li se ispitanik redovito, odnosno barem dvije uzastopne sezone gripe, cijepio protiv gripe i razlog zbog kojeg se cijepio protiv gripe. Ako je ispitanik izjavio da se cijepio sezonskim cjepivom 2010.-

11. protiv gripe, kontaktiran je njegov cjepitelj i prikupljena je potpuna informacija o cijepljenju (datum cijepljenja i naziv cjepiva ako su bili zabilježeni). U slučaju da je osoba koju se telefonski kontaktiralo dijete ili je preminula, podaci su bili prikupljeni heteroanamnestički, od roditelja, odnosno užeg člana obitelji. Za određen broj ispitanika podaci su prikupljeni i direktno iz povijesti bolesti, odnosno medicinske dokumentacije.

Neki prikupljeni podaci, odnosno varijable su rekodirani i kategorizirani. Izračunata je dob za svakog ispitanika na dan početka simptoma ILI i ispitanici su svrstani u 3 kategorije, odnosno 3 dobne skupine (0-17, 18-64, 65+). Rizične skupine kojima se preporuča cijepljenje u ovom istraživanju definirane su kao osobe u dobi 65 i više godina i osobe s barem 1 od sljedećih kroničnih bolesti: kronične bolesti srca i pluća, kronične metaboličke bolesti (uključujući diabetes mellitus), kronične bolesti bubrega i jetre, hemoglobinopatije i imunodeficijencije, neurološke i neuromuskularne bolesti, bolesnici sa zloćudnim tumorima i patološki pretili bolesnici. Ovisno o pripadnosti rizičnoj skupini napravljena je binarna varijabla.

Cjepni status ispitanika prikazan je kao binarna varijabla: izračunat je interval između datuma cijepljenja i početka simptoma. Ukoliko je prošlo više od 14 dana između cijepljenja i početka simptoma ispitanik se smatra cijepljenim. Ispitanici su smatrani necijepljenima ako je između datuma cijepljenja protiv gripe i početka simptoma gripe proteklo manje od 14 dana. Ispitanici u kojih je nakon intervjuiranja utvrđeno da imaju kontraindikaciju za cijepljenje protiv gripe isključeni su iz analize djelotvornosti cjepiva protiv gripe. Također su bili isključeni oni ispitanici u kojih se anketnim upitnikom utvrdilo da je od početka simptoma gripe do uzimanja uzorka za utvrđivanje virusa influence proteklo više od 7 dana ili ako se taj podatak nije uspio prikupiti. Naime, izlučivanje virusa influence nakon 7 dana od početka simptoma je rijetko te je pravilno te ispitanike ne uključiti u analizu procjene djelotvornosti cjepiva (67, 102). Također su bili isključeni iz analize i ispitanici kojima je uzorak uzet nakon 14. tjedna 2011. godine jer je tada cirkulacija virusa influence bila zanemariva, odnosno analiza je bila ograničena na tjedne u kojima je odnos slučajeva i kontrola podjednak jer bi situacija u kojoj imamo više kontrola nego slučajeva mogla biti uzrokom podcjenjivanja djelotvornosti cjepiva.

Slučaj-kontrola metodom dobije se omjer šansi (engl. OR). Iz OR izračuna se VE prema jednadžbi: $VE = (1 - OR) \times 100\%$ (102). Djelotvornost cjepiva se izrazila kao jedinstvena procijenjena vrijednost (engl. single point estimate). Ta vrijednost govori koliko je cjepivo protiv gripe smanjilo rizik (vjerojatnost) obolijevanja od gripe. Jednostavnije izrečeno, djelotvornost cjepiva od npr. 60% znači da je cjepivo protiv gripe za 60% smanjilo rizik od

gripe. Uz jedinstvenu procijenjenu vrijednost VE, prikazuje se i interval pouzdanosti za tu jedinstvenu procijenjenu vrijednost, npr. 60% (95%CI: 50%-70%). Interval pouzdanosti daje kontekst za razumijevanje preciznosti mjerenja procjene VE. Što su intervali pouzdanosti širi, preciznost dobivene procjene je manja.

Strukturirani anketni upitnik sadržavao je pitanja kojima su se prikupljali podaci o karakteristikama oboljelih koje mogu utjecati na procjenu djelotvornosti cjepiva. Naime, u opservacijskim istraživanjima primjena cjepiva nije nasumičan događaj. Naime, neke osobine pojedinca određuju hoće li on biti cijepljen protiv gripe ili neće, a istovremeno te iste osobine mogu biti i rizični faktori za razvoj težih oblika gripe. Stoga takve osobine pojedinca mogu biti čimbenici posredne povezanosti u istraživanjima djelotvornosti cjepiva protiv gripe. Stoga se primjerice prikupio podatak o kroničnim bolestima jer pripadnost rizičnoj skupini kojoj se preporuča cijepljenje može biti čimbenik posredne povezanosti (104, 105). Također, dob je vrlo često čimbenik posredne povezanosti.

Postoje različite metode kojima se smanjuje učinak postojećih razlika među cijepljenima i necijepljenima. Neki koriste restrikciju već u dizajnu istraživanja kako bi imali homogenu skupinu ispitanika s obzirom na potencijalne čimbenike posredne povezanosti (58) ili se koristi stratifikacija pri izračunu djelotvornosti cjepiva pa se analiza vrši po stratumima uzorka, odnosno po podskupinama (67). Ipak, u većini istraživanja potencijalni čimbenici posredne povezanosti neutraliziraju se putem multivarijatne logističke regresije kao što je učinjeno i u ovom istraživanju.

Nakon deskriptivne analize kojom su ispitanici opisani prema početnim (engl. baseline) karakteristikama, provedena je stratificirana analiza i to po dobnim skupinama (<65 godina, ≥65 godina), prisutnosti barem jedne kronične bolesti, po prethodnom cijepljenju pandemijskim cjepivom 2009. godine, po pušačkom statusu i po spolu. Učinak modifikacije (engl. effect modification) je procijenjen uspoređujući OR po stratumima početnih karakteristika (test homogenosti). Posredna povezanost je procijenjena uspoređujući grubi (engl. crude) i prilagođeni (engl. adjusted) OR za svaku karakteristiku. Prvo su se usporedili stratificirani OR-ovi testom homogenosti (Breslow-Day test ili Zelenov test kad se radi o poljima s manje od 5 podataka). Ako je test homogenosti pokazao da su stratificirani OR različiti, onda se radi o učinku modifikacije. Ako je test homogenosti pokazao da su stratificirani OR jednaki, onda se ne može govoriti o učinku modifikacije. Dalje se Cochran-Mantel-Haenszel (CMH) testom izračunao Mantel-Haenszel omjer šansi (MHOR) i usporedio

se grubi OR i MHOR: ako su bili isti, odnosno razlika je mala, posredna povezanost nije bila prisutna, no ako su OR i MHOR različiti, posredna povezanost je bila prisutna.

U ovom istraživanju provedena je kompletna analiza u kojoj su isključeni ispitanici za koje se podaci nisu mogli prikupiti. Za izračun omjera šansi i 95% intervala pouzdanosti korištena je multivarijatna logistička regresija.

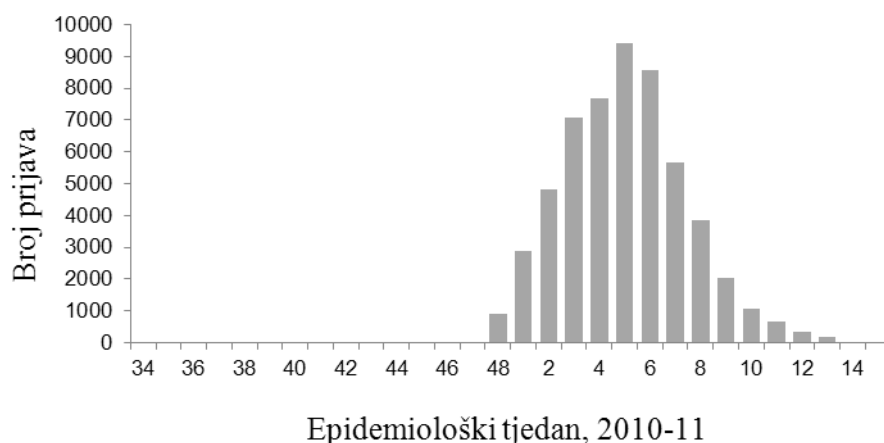
Djelotvornost cjepiva je prilagođena (engl. adjusted) za dob, prisutnost kroničnih bolesti, spol, mjesec uzimanja uzorka i status pušenja (aktivni pušač vs. neaktivni pušač).

Licencirani statistički program STATA (verzija 12.0; StataCorp LP) korišten je za sve provedene analize. Fisherov egzaktni test je korišten za usporedbu proporcija, gdje se p-vrijednost manja od 0,05 ($p < 0,05$) smatra statistički značajnom.

5. REZULTATI

5.1. Deskriptivna analiza

U sezoni gripe 2010.-11. u Službu za epidemiologiju HZJZ zaprimljeno je 55 281 prijava bolesti slične gripi kroz rutinski sustav praćenja zaraznih bolesti (slika 1).



Slika 1. Prijave bolesti slične gripi prema epidemiološkim tjednima¹ u Hrvatskoj (N=55281), sezona 2010.-11.²

¹Za prikaz kretanja zarazne bolesti po tjednima koriste se epidemiološki tjedni: svaki mjesec ima 4 epidemiološka tjedna. Prvi epidemiološki tjedan čine 1. do 7. dan mjeseca, drugi epidemiološki tjedan čine 8. do 14. dan, treći epidemiološki tjedan čine 15. do 21 dan, a četvrti epidemiološki tjedan čine 22. dan mjeseca pa svi dani do kraja mjeseca; ² Prva ILI prijava bila je u 34. tjednu

Incidencija prijava bolesti slične gripi, prema tjednim zbirnim izvještajima, bila je najviša u mlađoj dobnoj skupini (0-19 godina); 2% stanovništva Hrvatske te dobne skupine imalo je bolest sličnu gripi. Incidencija bolesti slične gripi u dobnoj skupini 20-64 godina bila je 1 170/100 000 stanovnika ili 1% stanovništva Hrvatske u toj dobnoj skupini imalo je bolest sličnu gripi. Najniža incidencija bila je među osobama u dobi starijoj od 64 godine (0,25% te dobne skupine imalo je bolest sličnu gripi).

Međutim, unatoč najnižoj incidenciji obolijevanja u osoba starije životne dobi, incidencija komplikacija koje zahtijevaju bolničko liječenje je značajno viša u toj dobi. Prema podacima

o bolesnicima hospitaliziranim u jedinicama intenzivnog liječenja (JIL) zbog komplikacija gripe, vidimo da je incidencija hospitalizacija u JIL za starije od 64 godine devet puta viša nego za mlade u dobi od 0-19, a tri puta viša nego za odrasle od 20-64 godina starosti (5,48 vs. 1,80 vs. 0,57 na 100 000 stanovnika). S obzirom da je incidencija bolesti slične gripi u mladim osam puta viša nego u starijih od 64 godine (2 111 na 100 000 u mladim, u odnosu na 258 na 100 000 u starijih), a incidencija hospitalizacije u JIL devet puta viša u starijih od 64 (5,48 na 100 000 u odnosu na 0,57 na 100 000) možemo okvirno procijeniti da osobe starije od 64 godine imaju oko 70 puta veću vjerojatnost da završe na intenzivnom liječenju zbog gripe nego osobe do 19 godina starosti. Na jednak način, može se procijeniti da osobe starije od 64 godine imaju 12 puta veću vjerojatnost da budu hospitalizirane u JIL zbog gripe nego osobe u dobi od 20-64 godine.

Nadalje, smrtnost od gripe (na 100 000 stanovnika) je u osoba starijih od 64 godine devetnaest puta viša nego u mladim do 19 godina (1,73 na 100 000 u odnosu na 0,09 na 100 000) te tri puta viša nego u odraslih u dobi od 20-64 godine (1,73 na 100 000 u odnosu na 0,60 na 100 000). Kad se uzme u obzir podatak da od gripe znatno češće oboljevaju mlađe osobe, možemo okvirno procijeniti da osobe starije od 64 godine imaju 150 puta veću vjerojatnost umrijeti od gripe nego osobe mlađe od 20 godina, a 50 puta veću vjerojatnost umrijeti od gripe nego osobe u dobi od 20-64 godina (tablica 1).

Tablica 1. Incidencija bolesti slične gripi, hospitalizacija u jedinicama intenzivnog liječenja i smrti od gripe u sezoni 2010.-2011. prema dobnim skupinama

Dobne skupine	Br. st.	Oboljeli od gripe (ILI)		ILI bolesnici u JIL zbog sumnje na komplikacije gripe		Umrli od gripe	
		Br. prijava	Incidencija*	Br.	Incidencija*	Br.	Incidencija*
0-19 godina	1053240	22237	2111	6	0,57	1	0,09
20-64 godina	2671375	31254	1170	48	1,80	16	0,60
65 i više godina	693540	1790	258	38	5,48	12	1,73

* na 100 000

Od 14. prosinca 2010. godine do 1. lipnja 2011. godine u Nacionalnom laboratoriju SZO za gripu u HZJZ obrađeni su respiratorni uzorci od 3660 oboljelih s ILI, pristigli iz svih hrvatskih županija. U 1692 oboljelih testiranje na virus influence provedeno je metodom direktne imunofluorescencije (DFA). U 1968 oboljelih testiranje na virus influence provedeno

je RT-PCR metodom. Od 1968 oboljelih sa simptomima sličnim gripi, a čiji su uzorci testirani RT-PCR metodom, 44% je bilo pozitivno na gripu što je 872 oboljelih.

Od ukupnog broja oboljelih sa simptomima sličnim gripi u čijem je respiratornom uzorku utvrđivan virus influence RT-PCR metodom (1968 oboljelih) odabran je uzorak za provođenje test-negativne slučaj-kontrola studije. Veličina uzorka određena je na temelju pretpostavki prikazanih u tablici 2, uz pomoć programa EpiInfo, verzija 6.

Tablica 2. Određivanje veličine uzorka

α	Snaga	Odnos slučajevi/kontrole	Pretpostavka OR	Cjepni obuhvat u izvornoj populaciji/kontrolnoj skupini	Broj slučajeva	Broj kontrola
0,05	80%	1:2	0,4	11%	247	494

Pretpostavka OR od 0,4, odnosno VE od 60% temeljila se na ranijim rezultatima procjena djelotvornosti cjepiva protiv gripe, posebice na rezultatima studija koje su provedene u pandemijskoj 2009. godini jer je u sezoni 2010.-11. nastavio u cirkulaciji dominirati A(H1N1)pdm09 virus protiv kojeg se cjepivo pokazalo visoko djelotvornim (92). Cjepni obuhvat u izvornoj populaciji, odnosno u kontrolnoj skupini ispitanika temeljen je na izvještajima o potrošnji cjepiva protiv sezonske gripe koje prikuplja Služba za epidemiologiju HZJZ (tablica 3).

Tablica 3. Potrošnja cjepiva protiv sezonske gripe i cjepni obuhvati u Hrvatskoj

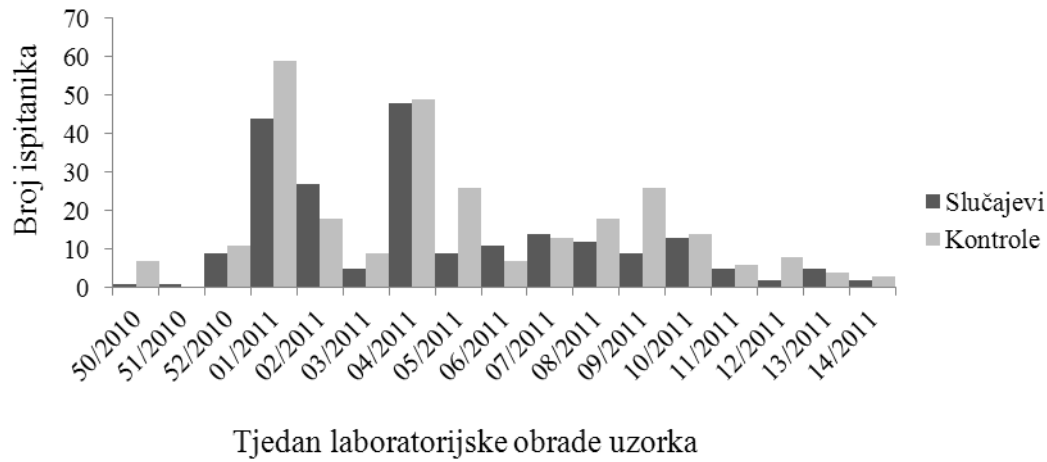
Sezona gripe	Distribuirano (doza)	Potrošeno doza (%)	Cjepni obuhvat (%)
2006.-07.	704 000	544 350 (77%)	12,3
2007.-08.	650 000	509 150 (78%)	11,5
2008.-09.	650 000	563 270 (87%)	12,7
2009.-10.	650 000	511 120 (79%)	11,5

Određena je veličina uzorka od 741 bolesnika, 494 kontrola (ILI bolesnici čiji je RT-PCR nalaz negativan na gripu) i 247 slučajeva (ILI bolesnici čiji je RT-PCR nalaz pozitivan na gripu). Od 1968 oboljelih s RT-PCR rezultatom nasumično je odabrano njih 1000, a 785 se uspjelo telefonski kontaktirati i anketirati. Od 785 anketiranih bolesnika, 40 oboljelih imalo je kontraindikaciju za cijepljenje protiv gripe (najčešće se radilo o dojenčadi ispod 6 mjeseci starosti) te su oni isključeni iz analize djelotvornosti cjepiva kao i bolesnici kojima je interval između početka simptoma gripe i uzimanja uzorka bio duži od 7 dana ili nepoznat te bolesnici s laboratorijskim nalazom nakon 14. tjedna 2011. godine (slika 2).

ILI bolesnici s RT-PCR nalazom nasumično odabrani za telefonsko anketiranje	1000
Bolesnici koje se nije uspjelo kontaktirati	-215
ILI bolesnici s RT-PCR nalazom koji su anketirani	785
Bolesnici koje se isključilo jer su imali kontraindikaciju za cijepljenje protiv gripe	-40
ILI bolesnici s RT-PCR nalazom koji su anketirani i koji nisu imali kontraindikaciju za cijepljenje	745
Bolesnici koje se isključilo jer su testirani na gripu nakon 14. tjedna 2011.	-13
Bolesnici koje se isključilo jer je interval između početka simptoma i uzimanja uzorka bio > 7 dana	-60
Bolesnici koje se isključilo jer je interval između početka simptoma i uzimanja uzorka bio nepoznat	-177
Isključivanje bolesnika s nepostojećim podacima o mogućim čimbenicima posredne povezanosti za kompletnu analizu	-0
495 (217 slučajeva, 278 kontrola)	

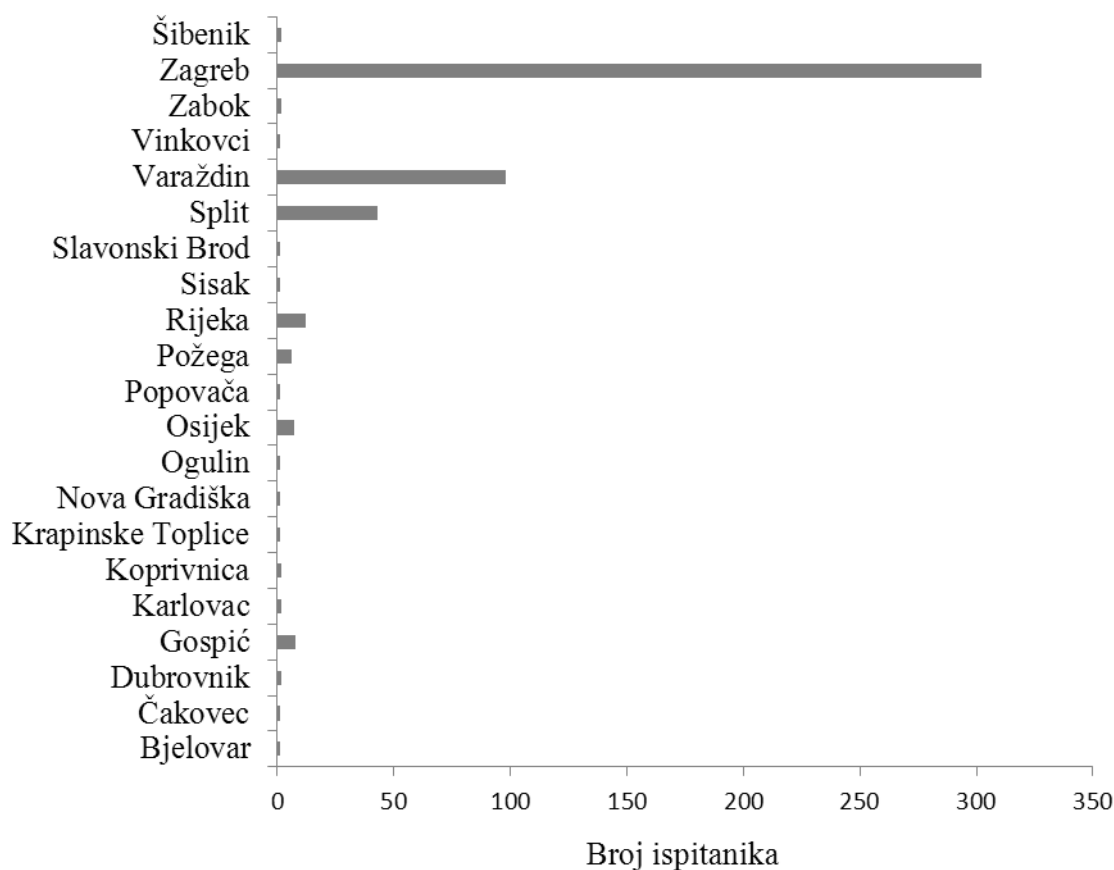
Slika 2. Dijagram isključivanja podataka iz VE analize

Podaci od 495 bolesnika sa simptomima sličnim gripi uključeni su u procjenu djelotvornosti cjeviva. Slika 3 prikazuje bolesnike sa simptomima sličnim gripi prema tjednu laboratorijske obrade uzorka i rezultatu RT-PCR-a.



Slika 3. Bolesnici sa simptomima sličnim gripi prema tjednu laboratorijske obrade i statusu slučaj ili kontrola, N=495

495 ispitanika ovog istraživanja dolazi iz 21 grada Hrvatske, iz 18 županija. Većina bolesnika sa simptomima sličnim gripi kojima je uzet uzorak radi utvrđivanja virusa influence je iz Zagreba i okolice, odnosno njih 61% (slika 4).



Slika 4. Broj ispitanika prema mjestu prebivališta u Hrvatskoj, N=495

Od 495 bolesnika, 217 bolesnika sa simptomima sličnim gripi su slučajevi (imaju pozitivan RT-PCR nalaz na virus influence), tj. 44%, a 278 bolesnika sa simptomima sličnim gripi su kontrole (imaju negativan RT-PCR nalaz na virus influence), tj. 56%. Medijan dobi u skupini slučajeva je 27 godina (IQR 7-48 godina), a u kontrolnoj skupini 27,5 godina (IQR 3-53 godina) (tablica 4). Srednja vrijednost dobi slučajeva je 29,5 godina uz standardnu devijaciju (SD) 23,3 i raspon 0-89, dok je za kontrole 30,5 godina uz SD 26,5 i raspon 0-104 ($p=0,6659$, računato t-testom).

Tablica 4. Karakteristike slučajeva i kontrola, N=495 (217 slučajeva, 278 kontrola)

		Slučajevi		Kontrole		p- vrijednost*
		N	%	N	%	
Dob	medijan dobi	27,0		27,5		0,856
	nema podatka	0		0		
Dobna skupina	0-17	79	36,4	113	40,6	0,029
	18-64	118	54,4	122	43,9	
	65+	20	9,2	43	15,5	
	nema podatka	0		0		
Spol	muški	105	48,4	164	59,0	0,023
	ženski	112	51,6	114	41,0	
	nema podatka	0		0		
Cijepljenje protiv gripe u sezoni 2010.-11.	da	12	5,5	22	7,9	0,371
	ne	205	94,5	256	92,1	
	nema podatka	0		0		
Tip virusa influence	kontrole	-	-	278	100,0	
	A(H1N1)pdm09	201	92,6	0	-	
	B	16	7,4	0	-	
Cijepljenje sezonskim cjepivom 2009.-10.	da	23	10,8	33	12,6	0,570
	ne	189	89,2	228	87,4	
	nema podatka	5		17		
Prethodno cijepljenje pand.cjepivom	da	2	0,9	4	1,4	0,700
	ne	215	99,1	274	98,6	
	nema podatka	0		0		
Kron.metaboličke bol.	da	11	5,1	17	6,1	0,697
	ne	206	94,9	261	93,9	
	nema podatka	0		0		
Kron.bolesti srca	da	33	15,2	49	17,6	0,543
	ne	184	84,8	229	82,4	
	nema podatka	0		0		
Kron.bolesti pluća	da	27	12,4	33	11,9	0,890
	ne	190	87,6	245	88,1	
	nema podatka	0		0		
Kron.bolesti bubrega	da	7	3,2	10	3,6	1,000
	ne	210	96,8	268	96,4	
	nema podatka	0		0		
Imunokomp.	da	7	3,2	20	7,2	0,071
	ne	210	96,8	258	92,8	
	nema podatka	0		0		
Kron.neurološke bol.	da	7	3,2	20	7,2	0,071
	ne	210	96,8	258	92,8	
	nema podatka	0		0		
Kron.bolesti jetre	da	5	2,3	3	1,1	0,307
	ne	212	97,7	275	98,9	
	nema podatka	0		0		
Zloćudni tumori	da	5	2,3	17	6,1	0,048

	ne	212	97,7	261	93,9	
	nema podatka	0		0		
Druge kronične bol.	da	24	11,1	37	13,3	0,493
	ne	193	88,9	241	86,7	
	nema podatka	0		0		
Barem 1 kronična bolest	da	87	40,1	131	47,1	0,122
	ne	130	59,9	147	52,9	
	nema podatka	0		0		
Trudnoća	da	12	5,5	11	4,0	0,519
	ne	205	94,5	267	96,0	
	nema podatka	0		0		
Hospitalizacija	da	129	59,4	204	73,4	0,001
	ne	88	40,6	74	26,6	
	nema podatka	0		0		
Pušački status	aktivni pušač	25	11,5	29	10,4	0,906
	prestao prije > 1 g.	20	9,2	28	10,1	
	nikada nije pušio	172	79,3	221	79,5	
	nema podatka	0		0		
Interval od simptoma do uzorkovanja	<4 dana	167	77,3	211	75,9	0,749
	≥4 dana	49	22,7	67	24,1	
	nema podatka	1**		0		
Pripada skupini kojoj se preporuča cijepljenje	da	92	42,4	136	48,9	0,173
	ne	125	57,6	142	51,1	
	nema podatka	0		0		
Pripada rizičnoj skupini***	da	87	40,1	133	47,8	0,101
	ne	130	59,9	145	52,2	
	nema podatka	0		0		
Rana i kasna faza sezone gripe	prije 5.tj. 2011.	82	37,8	125	45,0	0,119
	nakon 5.tj. 2011.	135	62,2	153	55,0	
	nema podatka	0		0		
Mjesec uzimanja uzorka	prosinač 2010.	11	5,1	18	6,4	
	siječanj 2011.	133	61,3	161	57,9	
	veljača 2011.	41	18,9	41	14,7	
	ožujak 2011.	30	13,8	53	19,1	
	travanj 2011.	2	0,9	5	1,8	
	nema podatka	0		0		
Tip ustanove iz koje dolazi uzorak	ZZJZ	7	3,2	3	1,1	0,157
	KBC/klin. bolnica	151	69,6	190	68,3	
	opća bolnica	58	26,7	85	30,6	
	ordinacija PZZ	1	0,5	0	0,0	
	nema podatka	0		0		
Tip cjepiva	neadjuvantirano	10	4,6	11	4,0	0,198
	adjuvantirano	0	0,0	4	1,4	
	tip cjepiva nepoz.	2	0,9	7	2,5	
	nije cijepljen	205	94,5	256	92,1	
	nema podatka	0		0		

*Za dob K-sample test jednakosti medijana, za sve druge varijable Fisherov egzaktni test

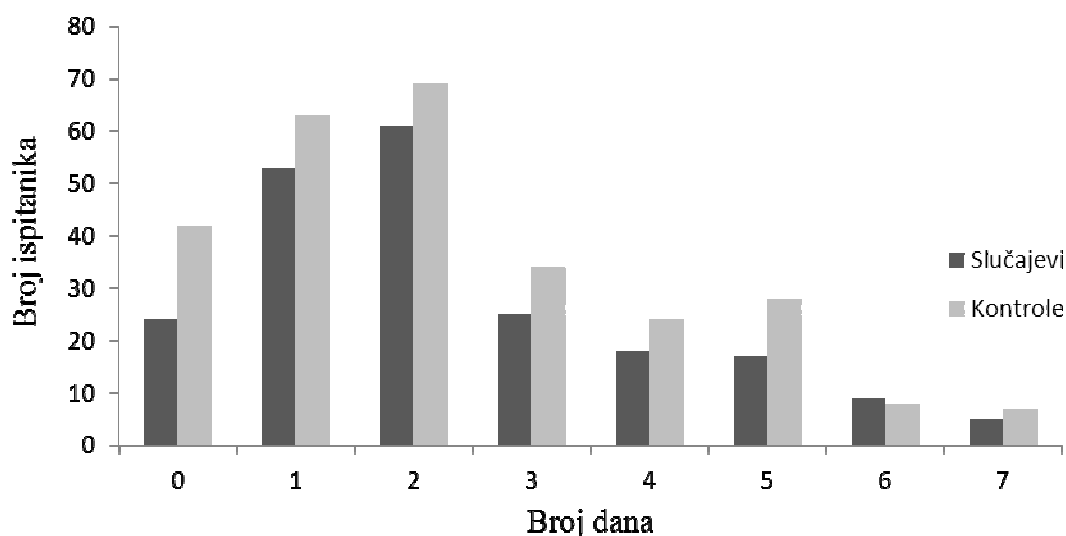
**Interval od početka simptoma do uzimanja uzorka 3-6 dana, no točan broj dana nepoznat

***Pripada rizičnoj skupini kojoj se preporuča cijepljenje (kronična bolest i/ili dob >64 g.)

Udio žena u kontrolnoj skupini je 41,0%, a u skupini slučajeva 51,6% (p=0,023). Udio ispitanika s barem 1 kroničnom bolesti među kontrolama je 47,1 %, u usporedbi s 40,1% među slučajevima (p=0,122). 44,4 % ispitanika u ovom istraživanju pripada rizičnoj skupini kojoj se preporuča cijepljenje, znači ili su stariji od 64 godine ili imaju barem 1 kroničnu bolest. Osim rizične skupine kojoj se preporuča cijepljenje identificirana je i tzv. ciljna skupina za cijepljenje protiv gripe u kojoj se nalaze i druge osobe kojima se preporučilo cijepljenje (prvenstveno zdravstveni djelatnici). 46,1% ispitanika pripada toj ciljnoj skupini. Među ispitanicima je sedam zdravstvenih djelatnika, petoro su slučajevi gripe, dvoje pripadaju kontrolnoj skupini. Troje je bilo cijepljeno protiv gripe, u dvoje je laboratorijski potvrđen virus influence (slučajevi), a u jednog nalaz je bio negativan.

Hospitalizirano je 67,3% ispitanika (333 ispitanika), 59,4% slučajeva i 73,4% kontrolnih ispitanika (p=0,001). 53,5% hospitaliziranih ispitanika imalo je barem 1 kroničnu bolest (68 slučaja i 110 kontrola, p=0,910).

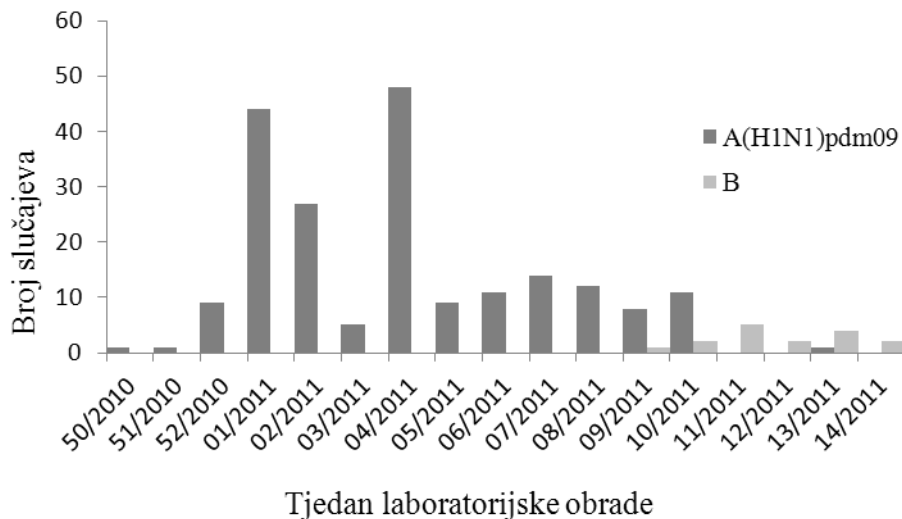
Interval od početka simptoma do uzimanja uzorka bio je 4-7 dana u 24,1% ispitanika kontrolne skupine, odnosno u 22,7% slučajeva (p=0,749). Za 487 ispitanika bio je poznat točan broj dana od početka simptoma do uzimanja uzorka, a za druge ispitanike su zabilježeni intervale prema anketnom upitniku: < 3 dana, 3-6 dana, tjedan dana ili više. Slika 5 prikazuje slučajeve i kontrole razvrstane po broju dana proteklom od početka simptoma bolesti slične gripi do uzimanja uzorka za utvrđivanje virusa influence za tih 487 ispitanika.



Slika 5. Ispitanici prema broju dana od početka simptoma do uzimanja uzorka, N=487

Uzorci su uzeti nakon 5. tjedna 2011. godine u 55% kontrola, odnosno 62,2% slučajeva ($p=0,119$). Od ukupnog broja pristiglih uzoraka, 68,9% uzoraka pristiglo je iz kliničkih bolnica, a 28,9% iz općih bolnica. Samo je jedan uzorak uzet u ordinaciji liječnika obiteljske medicine (za jedan slučaj gripe).

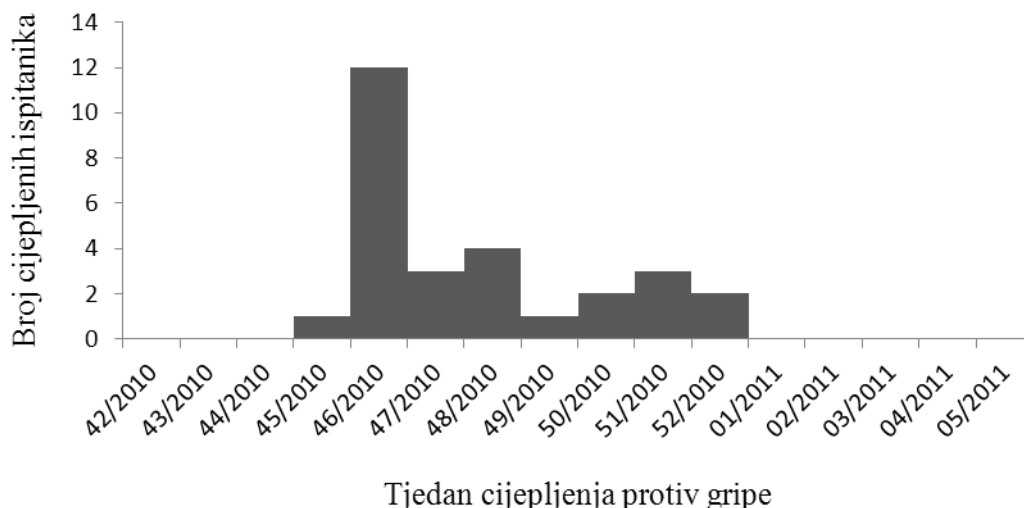
Virus influence koji je prevladavao u cirkulaciji u sezoni 2010.-11. bio je virus influence A(H1N1)pdm09. Virus B influence utvrđen je tek pred kraj sezone (slika 6).



Slika 6. Slučajevi gripe prema tipu virusa influence i tjednu laboratorijskog rezultata, N=495

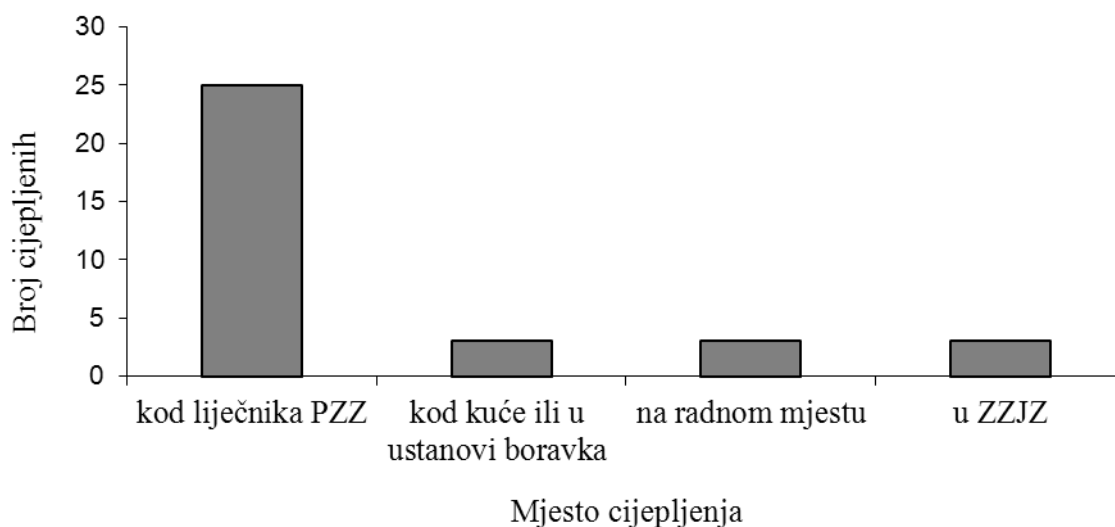
RT-PCR metodom u 201 slučaj (92,6%) utvrđen je A(H1N1)pdm09 influenza virus, a u 16 slučajeva (7,4%) influenza B virus.

Od 495 bolesnika, u kojih su bili zadovoljeni kriteriji uključivanja u studiju djelotvornosti cjevica, 34 (6,9%) je bilo cijepljeno protiv gripe: 12 slučajeva i 22 kontrole ($p=0,371$). Od 34 cijepljenih, za 28 se uspio doznati točan datum cijepljenja te su prikazani na slici 7 prema tjednu cijepljenja protiv sezonske gripe.



Slika 7. Bolesnici sa simptomima sličnim gripi prethodno cijepljeni protiv sezonske gripe prema tjednu cijepjenja, N=28

Većina cijepljenih ispitanika cijepljena je protiv gripe u ordinacijama primarne zdravstvene zaštite, njih 25, tj. 74% (slika 8).



Slika 8. Ispitanici cijepljeni protiv gripe prema mjestu cijepjenja, N=34

U ovom istraživanju za potrebe analize, cjepiva su svrstana prema tipu cjepiva na neadjuvantirana i adjuvantirana. Neadjuvantiranim cjepivima cijepjeno je 10 ispitanika koji pripadaju skupini slučajeva i 11 pripadnika kontrolne skupine (4,6%, odnosno 4,0%). Adjuvantiranim cjepivom cijepljena su 4 kontrolna ispitanika, no nije cijepljen niti jedan slučaj. Podatak o tipu cjepiva, mada su cijepljeni, nije se uspio prikupiti za dva slučaja (0,9%) i sedam kontrola (2,5%).

205 ispitanika koji pripadaju skupini slučajeva nije cijepljeno, odnosno 256 ispitanika koji pripadaju kontrolnoj skupini.

Na temelju podataka prikazanih u tablici 4 nema statistički značajne razlike između slučajeva i kontrola s obzirom na cijepljenje sezonskim cjepivom 2009.-10. i s obzirom na cijepljenje pandemijskim cjepivom ($p=0,570$, odnosno $p=0,700$).

Ispitanici koji su se barem dvije sezone cijepili protiv gripe upitani su o razlozima zbog kojih se cijepi. Tablica 5 prikazuje razloge koje su ispitanici naveli.

Tablica 5. Razlozi cijepljenja protiv gripe koje su ispitanici naveli

		slučajevi		kontrole		
		N	%	N	%	
Razlog zbog kojeg se cijepi	nije primjenjivo	203	93,5	252	91,0	0,279
	kronična bolest	7	3,2	7	2,5	
	>65 godina	3	1,4	12	4,3	
	preporuča mu liječnik	0	0,0	2	0,7	
	boji se gripe	0	0,0	0	0,0	
	ne zna točan razlog	2	0,9	0	0,0	
	drugo	2	0,9	4	1,4	
	nema podatka	0		1		

Temeljem anketnog upitnika doznalo se da je 19 ispitanika, odnosno oboljelih sa simptomima sličnim gripu umrlo tijekom sezone gripe (unutar 30 dana od početka simptoma) ili nakon nje (proteklo više od 30 dana od početka simptoma). 6 ispitanika koji su umrli pripada slučajevima, a 13 kontrolnoj skupini ($p=0,348$) (tablica 6).

Tablica 6. Distribucija umrlih ispitanika među slučajevima i kontrolama

		Slučajevi		Kontrole		
		N	%	N	%	p-vrijednost
Smrt	da	6	2,8	13	4,7	0,348
	ne	211	97,2	265	95,3	

11 ispitanika (svih 6 slučajeva i 5 kontrola) umrlo je unutar 30 dana od početka simptoma gripe, a 8 ispitanika (0 slučajeva i 8 kontrola) nakon što je proteklo više od 30 dana od početka simptoma, a do trenutka anketiranja. Iako uzrok smrti nije ispitan niti dokumentiran, podaci govore da su svi umrli bolesnici u kojih je laboratorijski potvrđena gripa (njih šest) umrli unutar 30 dana od početka simptoma. Svi umrli do 30 dana imali su kronične bolesti u anamnezi (tablica 7).

Tablica 7. Karakteristike slučajeva i kontrola u kojih je smrt nastupila unutar 30 dana od početka simptoma bolesti slične gripi, N=11

		Slučajevi	Kontrole	
		N	N	p-vrijednost
Spol	muški	3	3	1,000
	ženski	3	2	
Tip virusa influence	A(H1N1)pdm09	5	0	
	B	1	0	
Dobna skupina	0-17	0	0	0,567
	18-64	4	2	
	65+	2	3	
Pripadnost rizičnoj skupini	da	6	5	
	ne	0	0	
Cijepljenje protiv gripe	da	1	1	1,000
	ne	5	4	

U ovom istraživanju rizičnim skupinama kojima se preporuča cijepljenje pripada 220 ispitanika, a cilj istraživanja je procijeniti djelotvornost cjepiva i u toj skupini (tablica 8).

Tablica 8. Karakteristike slučajeva i kontrola rizične skupine, N=220

Rizična skupina (osobe barem s 1 kroničnom bolesti i/ili dob>64 godine), N=220		Slučajevi		Kontrole		p- vrijed.*
		N	%	N	%	
Dob	medijan dobi	51,0		53,0		0,411
	nema podatka	0		0		
Dobna skupina	0-17	17	19,5	28	21,1	0,239
	18-64	50	57,5	62	46,6	
	65+	20	23,0	43	32,3	
	nema podatka	0		0		
Spol	muški	46	52,9	85	63,9	0,123
	ženski	41	47,1	48	36,1	
	nema podatka	0		0		
Cijepljenje protiv gripe u sezoni 2010.-11.	da	9	10,3	19	14,3	0,418
	ne	78	89,7	114	85,7	
	nema podatka	0		0		
Tip virusa influence	kontrola	-	-	133	100,0	
	A(H1N1)pdm09	78	89,7	0	-	
	B	9	10,3	0	-	
Cijepljenje sezonskim cjepivom 2009.-10.	da	15	18,1	27	21,6	0,599
	ne	68	81,9	98	78,4	
	nema podatka	4		8		
Prethodno cijepljenje pand.cjepivom	da	1	1,1	3	2,3	1,000
	ne	86	98,9	130	97,7	
	nema podatka	0		0		
Kron.metaboličke bolesti	da	11	12,6	17	12,8	1,000
	ne	76	87,4	116	87,2	
	nema podatka	0		0		
Kron.bolesti srca	da	33	37,9	49	36,8	0,887
	ne	54	62,1	84	63,2	
	nema podatka	0		0		
Kron.bolesti pluća	da	27	31,0	33	24,8	0,354
	ne	60	69,0	100	75,2	
	nema podatka	0		0		
Kron.bolesti bubrega	da	7	8,0	10	7,5	1,000
	ne	80	92,0	123	92,5	
	nema podatka	0		0		
Imunokompromit.	da	7	8,0	20	15,0	0,144
	ne	80	92,0	113	85,0	
	nema podatka	0		0		
Kron.neurološke bolesti	da	7	8,0	20	15,0	0,144
	ne	80	92,0	113	85,0	
	nema podatka	0		0		
Kron.bolesti jetre	da	5	5,7	3	2,3	0,269
	ne	82	94,3	130	97,7	
	nema podatka	0		0		

Zloćudni tumori	da	5	5,7	17	12,8	0,109
	ne	82	94,3	116	87,2	
	nema podatka	0		0		
Druge kronične bolesti	da	24	27,6	37	27,8	1,000
	ne	63	72,4	96	72,2	
	nema podatka	0		0		
Barem 1 kronična bolest	da	87	100,0	131	98,5	0,520
	ne	0	0,0	2	1,5	
	nema podatka	0		0		
Trudnoća	da	2	2,3	2	1,5	0,649
	ne	85	97,7	131	98,5	
	nema podatka	0		0		
Hospitalizacija	da	68	78,2	112	84,2	0,286
	ne	19	21,8	21	15,8	
	nema podatka	0		0		
Pušenje	aktivni pušač	8	9,2	20	15,0	0,420
	prestao prije > 1 god.	15	17,2	23	17,3	
	nikada nije pušio	64	73,6	90	67,7	
	nema podatka	0		0		
Interval od početka simptoma do uzimanja uzorka	<4 dana	65	74,7	107	80,5	0,322
	≥4 dana	22	25,3	26	19,5	
	nema podatka	0		0		
Rana i kasna faza sezone gripe	prije 5. tjedna 2011.	35	40,2	69	51,9	0,099
	nakon 5. tjedna 2011.	52	59,8	64	48,1	
	nema podatka	0		0		
Tip ustanove iz koje dolazi uzorak	ZZJZ	2	2,3	0	0,0	0,179
	KBC/klin. bolnica	58	66,7	89	66,9	
	opća bolnica	26	29,9	44	33,1	
	LOM	1	1,1	0	0,0	
	nema podatka	0		0		
Tip cjepiva 2010.-11.	neadjuvantirano	7	8,0	8	6,0	0,270
	adjuvantirano	0	0,0	4	3,0	
	tip cjepiva nepoznat	2	2,3	7	5,3	
	nije cijepljen	78	89,7	114	85,7	
	nema podatka	0		0		

*Za dob K-sample test jednakosti medijana, za sve druge varijable Fisherov egzaktni test

U 39,5% ispitanika koji pripadaju rizičnoj skupini, gripa je bila laboratorijski dokazana (slučajevi), dok je 60,5% pripadalo kontrolnoj skupini.

Tablica 8 pokazuje da nema statistički značajnih razlika između slučajeva i kontrola rizične skupine u prikazanim obilježjima ($p > 0,05$). Preciznije, ne može se odbaciti tvrdnja da slučajevi i kontrole dolaze iz iste distribucije na razini značajnosti 5%. Srednja vrijednost dobi za slučajeve je 45,0 godina uz SD 24,1 i raspon 3-89, a za kontrole 46,0 godina uz SD 26,8 i raspon 0-104 ($p = 0,7875$, računato t-testom). Dobna skupina s najvećim udjelom u skupini

rizičnih bolesnika je dobna skupina 18-64 (50,9%), potom dobna skupina 65 i više godina (28,6%), a najmanje je onih u dobi od 0-17 (20,1%). Cjepivo protiv gripe primilo je 12,7% rizičnih ispitanika, što je nešto veći obuhvat nego u svih ispitanika ovog istraživanja (6,9%), no u odnosu na sezonsko cijepljenje 2009.-10. obuhvat u rizičnih ispitanika opada (19,1%). Svega 1,8% rizičnih ispitanika bilo je cijepljeno pandemijskim monovalentnim adjuvantiranim cjevivom tijekom pandemije.

Tablica 9. Broj i cjepni status slučajeva i kontrola prema pripadnosti rizičnoj skupini

Pripadnost rizičnoj skupini			
		Da	Ne
Slučajevi	N	87	130
	Cijepljeno (%)	9 (10,3)	3 (2,3)
Kontrole	N	133	145
	Cijepljeno (%)	19 (14,3)	3 (2,1)

Iz tablice 9 vidljivo je da je cijepljeno 12,7% rizičnih ispitanika, a da se skupina koja ne pripada rizičnoj skupini cijepila svega 2,0 %. No pripadnici rizičnih skupina u ovom istraživanju imali su manju šansu oboljeti od „nerizičnih“, naime u rizičnoj skupini manji je omjer slučajeva naspram kontrola u usporedbi s omjerom slučajeva i kontrola „nerizičnih“.

Ispitanici koji pripadaju rizičnoj skupini kojoj se preporuča cijepljenje analizirani su i po dobnim skupinama (tablica 10) kako bismo utvrdili koliko je rizičnih ispitanika koje dobne skupine cijepljeno i koliko ih je oboljelo.

Tablica 10. Karakteristike ispitanika rizične skupine razvrstanih u dobne skupine

Dobna skupina	N	Rizična skupina		
		N (%)	cijepljeno (%)	oboljelo od lab. potvrđene gripe
0-17	192	45 (23,4%)	2 (4,4%)	17 (37,7%)
18-64	240	112 (46,7%)	12 (10,7%)	50 (44,6%)
65+	63	63 (100%)	14 (22,2%)	20 (31,7%)

U dobnoj skupini 0-17 od rizičnih 45 ispitanika samo je dvoje cijepljeno (4,4%), u dobi od 18-64 cijepljeno je njih 12 (10,7%), a u dobi 65 i više godina cijepljeno je njih 14 (22,2%). Ti nam podaci govore da se od svih rizičnih bolesnika najmanje cijepi protiv gripe rizična djeca, potom mladi odrasli ljudi, a najbolja je procijepljenost rizičnih starijih osoba.

U dobnoj skupini 0-17 od rizičnih 45 ispitanika oboljelo je od PCR potvrđene gripe njih 17 (37,7%), u dobi od 18-64 od rizičnih 112 oboljelo je od PCR potvrđene gripe njih 50 (44,6%), a u dobi od 65 i više godina od njih 63 rizičnih oboljelo je od PCR potvrđene gripe njih 20 (31,7%).

U skupini rizičnih bolesnika dob u koje je najveći udio oboljelih od laboratorijski potvrđene gripe je dob 18-64, potom 0-17, a najmanji je udio u dobi 65 i više godina (tablica 10).

Kako je jedan od ciljeva istraživanja procijeniti djelotvornost u određenim dobnim skupinama, ispitanici su svrstani u 3 dobne skupine: 0-17, 18-64 i 65+. U tablicama 11, 12 i 13 prikazana je deskriptivna analiza navedenih dobnih skupina.

Tablica 11. Karakteristike slučajeva i kontrola dobne skupine 0-17, N=192 (79 slučajeva, 113 kontrola)

Dobna skupina 0-17		Slučajevi		Kontrole		
		N	%	N	%	p-vrijed.*
Dob	medijan dobi	5.0		2.0		0,002
Dobna skupina	0-4	39	49,4	75	66,4	0,025
	5-17	40	50,6	38	33,6	
Spol	muški	34	43,0	71	62,8	0,008
Cijepljenje 2010.-11.	da	1	1,3	4	3,5	0,650
Tip virusa influenzae	kontrole	-	-	113	100,0	
	A(H1N1)pdm09	73	92,4	0	-	
	B	6	7,6	0	-	
Cijepljenje sez. cjep. 2009.-10.**	da	5	6,3	4	3,6	0,4939
Pand. cjepivo	da	0		0		
Barem 1 kronična bolest	da	17	21,5	28	24,8	0,7295

Trudnoća	da	0		0		
Hospitalizacija	da	42	53,2	83	73,4	0,0054
Pušenje	aktivni pušač	0	0,00	1	0,9	1,000
	prestao prije > 1 god.	0		0		
	nikada nije pušio	79	100,0	112	99,1	
Interval od simpt. do uzorka	<4 dana	62	78,5	81	71,7	0,3166
Pripada rizičnoj skupini	da	17	21,5	28	24,8	0,7295
Tip cjeviva	neadjuvantirano	1	1,3	3	2,6	0,7902
	adjuvantirano	0		0		
	nepoznat tip cjeviva	0	0,00	1	0,9	
	nije cijepljen	78	98,7	109	96,5	

* Za dob K-sample test jednakosti medijana, za sve druge varijable Fisherov egzaktni test;

** za 2 kontrole nema podatka

U dobnoj skupini 0-17 gripa je laboratorijski potvrđena u 41% oboljelih sa simptomima sličnim gripi (79 od 192), a protiv gripe je cijepljeno svega 5 ispitanika (2,6%). Od 192 ispitanika, 45 pripada rizičnim skupinama, znači 23,4% ispitanika imaju barem jednu kroničnu bolest. Od tih 45 kojima bi se preporučilo cijepljenje samo je dvoje cijepljeno, a to je svega 4,4%. Niti jedna osoba u ovoj dobnoj skupini nije umrla.

Tablica 12. Karakteristike slučajeva i kontrola dobne skupine 18-64, N=240 (118 slučajeva, 122 kontrole)

Dobna skupina 18-64		Slučajevi		Kontrole		p-vrijed.*
Dob	medijan dobi	N	%	N	%	
		36,5		38,0		0,608
Dobna skupina	10-	4	3,4	3	2,5	0,6259
	20-	33	28,0	30	24,6	
	30-	32	27,1	32	26,2	
	40-	20	16,9	25	20,5	
	50-	25	21,2	22	18,0	
	60-	4	3,4	10	8,2	
Spol	muški	59	50,0	64	52,5	0,7962
Cijepljenje 2010.-11.	da	8	6,8	7	5,7	0,7945

Tip virusa	kontrole	-	-	122	100,0	
influenca	A(H1N1)pdm09	111	94,1	0	-	
	B	7	5,9	0	-	
Cijepljenje sez. cjep. 2009.-10.**	da	14	12,4	13	11,9	1,0000
Pand. cjevivo	da	2	1,7	2	1,6	1,0000
Barem 1 kronična bolest	da	50	42,4	62	50,8	0,1984
Trudnoća	da	12	10,2	11	9,0	0,8284
Hospitalizacija	da	67	56,8	81	66,4	0,1447
Pušenje	aktivni pušač	24	20,3	23	18,9	0,8657
	prestao prije > 1 god.	13	11,0	16	13,1	
	nikada nije pušio	81	68,7	83	68,0	
Interval od simpt. do uzorka	<4 dana	93	79,5	94	77,1	0,7541
	≥4 dana	24	20,5	28	22,9	
	nema podatka	1***		0		
Pripada rizičnoj skupini	da	50	42,4	62	50,8	0,1984
Tip cjeviva	neadjuvantirano	6	5,1	5	4,1	0,8221
	adjuvantirano	0	0,0	1	0,8	
	tip cjeviva nepoznat	2	1,7	1	0,8	
	nije cijepljen	110	93,2	115	94,3	

* Za dob korišten K-sample test jednakosti medijana, za sve druge varijable Fisherov egzaktni test; ** za 5 slučajeva i 13 kontrola nema podatka;

*** Interval od početka simptoma do uzimanja uzorka 3-6 dana, no točan broj dana nepoznat

U dobnoj skupini 18-64 gripa je laboratorijski potvrđena u 49,2% oboljelih sa simptomima sličnim gripi (118 od 240). Nema statistički značajnih razlika između slučajeva i kontrola dobne skupine 18-64 u prikazanim obilježjima ($p > 0,05$). 15 ispitanika ove dobne skupine je cijepljeno (6,3%). Od 15 cijepljenih, osam je neuspjeha cijepljenja (slučajevi) što je 53%. 46,7% ispitanika (112) ove dobne skupine ima barem jednu kroničnu bolest. Od 112 ispitanika ove dobne skupine s barem jednom kroničnom bolesti 10,7% ih je cijepljeno. Umrlo je 10 ispitanika ove dobne skupine.

Tablica 13. Karakteristike slučajeva i kontrola dobne skupine 65 i više godina, N=63 (20 slučajeva, 43 kontrole)

Dobna skupina 65+		Slučajevi		Kontrole		p-vrijed.*
		N	%	N	%	
Dob	medijan dobi	74,5		73,0		0,788
Dobna skupina	60-	5	25,0	11	25,6	0,7640
	70-	10	50,0	25	58,1	
	80-	5	25,0	6	14,0	
	100-	0	0,0	1	2,3	
Spol	muški	12	60,0	29	67,4	0,5823
Cijepljenje 2010.-11.	da	3	15,0	11	25,6	0,5177
Tip virusa influence	kontrola	0	0,0	43	100,0	
	A(H1N1)pdm09	17	85,0	0	0,0	
	B	3	15,0	0	0,0	
Cijepljenje sez. cjep. 2009.-10.**	da	4	20,0	16	39,0	0,1597
Pand.cjepivo	da	0	0,0	2	4,6	1,0000
Barem 1 kronična bolest	da	20	100,0	41	95,4	1,0000
Hospitalizacija	da	20	100,0	40	93,0	0,5452
Pušenje	aktivni pušač	1	5,0	5	11,6	0,7155
	prestao prije > 1 god.	7	35,0	12	27,9	
	nikada nije pušio	12	60,0	26	60,5	
Interval od simpt. do uzorka	<4 dana	12	60,0	36	83,7	0,0573
	≥4 dana	8	40,0	7	16,3	
Pripada rizičnoj skupini	da	43	100,0	20	100,0	
Tip cjepiva	neadjuvantirano	3	15,0	3	7,0	0,2312
	adjuvantirano	0	0,0	3	7,0	
	tip cjepiva nepoznat	0	0,0	5	11,6	
	nije cijepljen	17	85,0	32	74,4	

* Za dob korišten K-sample test jednakosti medijana, za sve druge varijable Fisherov egzaktni test; ** za 2 kontrole nema podatka

31,7% ispitanika dobne skupine 65+ imalo je laboratorijski potvrđenu gripu, 14 je cijepljeno (22,2%). Nema statistički značajnih razlika između slučajeva i kontrola dobne skupine 65+ u prikazanim obilježjima ($p > 0,05$). Interesantno je da je hospitalizirano 100% slučajeva i 93% kontrola, što je razlika u odnosu na ukupan uzorak i u odnosu na druge dobne skupine.

Stariji ispitanici ovog istraživanja imaju veću šansu biti cijepljeni i manju šansu oboljeti od gripe. Od 14 cijepljenih, tri ispitanika nisu bila zaštićena (neuspjeh cijepljenja 21%). U kontrolnoj skupini cijepljeno je 11 ispitanika: troje je cijepljeno adjuvantiranim cjepivom, troje neadjuvantiranim cjepivom, a za čak pet kontrolnih ispitanika tip cjepiva nije bio poznat. Svi ispitanici koji su cijepljeni, a u kojih je laboratorijski potvrđena gripa cijepljeni su neadjuvantiranim cjepivom. Niti jedan slučaj nije cijepljen adjuvantiranim cjepivom.

U ovoj dobnoj skupini 9 je umrlih, a samo je jedan ispitanik bio prethodno cijepljen.

Cjepni obuhvati su bili različiti među dobnim skupinama i statusu slučaj ili kontrola: među ispitanicima u dobi od 65 godina i više 22,2% bilo je cijepljeno: 15,0% slučajeva i 25,6% kontrola (tablica 14).

Tablica 14. Broj i cjepni status slučajeva i kontrola prema dobnim skupinama

		Dobne skupine (godine)			
		0-17	18-64	65+	Ukupno
Slučajevi	N	79	118	20	217
	Cijepljeno (%)	1 (1,3)	8 (6,8)	3 (15,0)	12 (5,5)
Kontrole	N	113	122	43	278
	Cijepljeno (%)	4 (3,5)	7 (5,7)	11 (25,6)	22 (7,9)

5.2. Stratificirana analiza

Provedena je stratificirana analiza i to: po dobnim skupinama (<65 godina, ≥65 godina), po prisutnosti barem 1 kronične bolesti, po prethodnom cijepljenju pandemijskim cjepivom, po pušenju i po spolu. Prvo se izračunao grubi OR u ispitanika za koje smo imali podatak o dobi, o prisutnosti kronične bolesti, o cijepljenju pandemijskim cjepivom, o pušenju i o spolu, a to su bili svi ispitanici ovog istraživanja. Prvo je izračunat grubi OR koji je iznosio 0,68 uz 95%CI: 0,30-1,48 (tablica 15).

Tablica 15. Izračun grubog omjera šansi, N=495

	slučajevi	kontrole	
cijepljeni	12	22	495
necijepljeni	205	256	
	OR	95% CI	
	0,68	0,30 - 1,48	

Potom su se podaci stratificirali prema izabranoj varijabli koja može imati učinak modifikacije ili može biti čimbenik posredne povezanosti te je za svaki stratum izračunat stratificirani OR.

Stratificiranom analizom identificirani su dob i kronična bolest kao čimbenici posredne povezanosti, dob je najjači čimbenik posredne povezanosti. Testovi homogenosti u stratificiranim analizama po svim varijablama pokazali su da su OR jednaki, tj. nije se mogla odbaciti pretpostavka da su OR jednaki te se ne može govoriti o učinku modifikacije tih varijabli (tablica 16).

Tablica 16. Stratifikacija po dobi, po prisutnosti barem 1 kronične bolesti, po prethodnom cijepljenju pandemijskim cjepivom, po pušenju i po spolu

Podskupina ispitanika dobi < 65 godina			
	slučajevi	kontrole	
cijepljeni	9	11	432
necijepljeni	188	224	
	OR	95% CI	
	0,97	0,35 - 2,65	
Podskupina ispitanika dobi ≥ 65 godina			
	slučajevi	kontrole	
cijepljeni	3	11	63
necijepljeni	17	32	
	OR	95% CI	
	0,51	0,08 - 2,34	

Test homogenosti 0,6851

MHOR	95% CI
0,80	0,38 - 1,69

Relativni % promjene OR: -17

Podskupina ispitanika bez kronične bolesti

	slučajevi	kontrole
cijepljeni	3	3
necijepljeni	127	144
		277
OR	95% CI	
1,13	0,15 - 8,61	

Podskupina ispitanika s kroničnom bolesti

	slučajevi	kontrole
cijepljeni	9	19
necijepljeni	78	112
		218
OR	95% CI	
0,68	0,26 - 1,68	

Test homogenosti 0,6586

MHOR	95% CI
0,76	0,36 - 1,59

Relativni % promjene OR: -12

Podskupina ispitanika necijepljena pandemijskim cjepivom

	slučajevi	kontrole
cijepljeni	11	20
necijepljeni	204	254
		489
OR	95% CI	
0,68	0,29 - 1,54	

Podskupina ispitanika cijepljena pandemijskim cjepivom

	slučajevi	kontrole	
cijepljeni	1	2	
necijepljeni	1	2	
			6
	OR	95% CI	
	1,00	0,01 – 117,33	
Test homogenosti		1,000	
	MHOR	95% CI	
	0,70	0,33 - 1,46	
Relativni % promjene OR:	-3		

Podskupina ispitanika nepušača

	slučajevi	kontrole	
cijepljeni	11	20	
necijepljeni	181	229	
			441
	OR	95% CI	
	0,70	0,29 - 1,57	

Podskupina ispitanika pušača

	slučajevi	kontrole	
cijepljeni	1	2	
necijepljeni	24	27	
			54
	OR	95% CI	
	0,56	0,01 - 11,56	
Test homogenosti		1,000	
	MHOR	95% CI	
	0,68	0,33 - 1,41	
Relativni % promjene OR:	0		

Podskupina ispitanika ženskog spola		
	slučajevi	kontrole
cijepljeni	5	10
necijepljeni	107	104
		226
	OR	95% CI
	0,49	0,13 - 1,63
Podskupina ispitanika muškog spola		
	slučajevi	kontrole
cijepljeni	7	12
necijepljeni	98	152
		269
	OR	95% CI
	0,90	0,29 - 2,59
Test homogenosti	0,407	
	MHOR	95% CI
	0,69	0,33 - 1,42
Relativni % promjene OR:	-1	

5.3. Djelotvornost cjepiva

5.3.1. Djelotvornost cjepiva u svih ispitanika

Za izračun omjera šansi i 95% intervala pouzdanosti korištena je multivarijatna logistička regresija. Djelotvornost cjepiva je prilagođena za dob, prisutnost kroničnih bolesti, spol, mjesec uzimanja uzorka i status pušenja (aktivni pušač vs. neaktivni pušač).

Tablica 17. Gruba i prilagođena djelotvornost cjepiva protiv gripe u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa i gripe tipa A(H1N1)pdm09, Hrvatska, sezona 2010.-11.

	Gripa neovisno o tipu virusa		Gripa tipa A(H1N1) pdm09	
	VE (%)	95% CI	VE (%)	95% CI
Kompletna analiza				
Gruba djelotvornost	31,9	-40,9-67,1	33,4	-40,6-68,5
Djelotvornost prilagođena za:				
Dobnu skupinu	23,0	-64,3-63,9	21,4	-71,6-63,9
Kroničnu bolest	24,3	-59,2-64,0	23,8	-63,7-64,5
Mjesec uzimanja uzorka*	30,6	-44,2-66,6	30,0	-50,0-67,3
Spol	31,7	-41,9-67,1	33,7	-40,7-68,7
Pušenje	31,7	-41,3-67,0	33,4	-40,7-68,5
Dobnu skupinu + kroničnu bolest	20,1	-71,1-62,7	18,0	-79,4-62,5
Dobnu skupinu + kroničnu bolest + mjesec uzimanja uzorka*	18,9	-74,6-62,3	14,9	-88,7-61,6
Dobnu skupinu + kroničnu bolest + mjesec uzimanja uzorka* + spol	20,7	-71,4-63,3	17,3	-84,1-62,9
Dobnu skupinu + kronično stanje + mjesec uzimanja uzorka* + spol + pušenje	20,7	-71,4-63,3	17,3	-84,1-62,9

* travanj izbačen iz analize za gripu tipa A(H1N1)pdm09

Gruba djelotvornost cjepiva u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa gripe bila je 31,9% (95%CI: -40,9-67,1), dok je gruba djelotvornost cjepiva u sprečavanju gripe tipa A(H1N1)pdm09 bila 33,4% (95%CI: -40,6-68,5) (tablica 17). Potpuno prilagođene procjene djelotvornosti cjepiva bile su 20,7% (95%CI: -71,4-63,3) u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa gripe i 17,3% (95%CI: -84,1-62,9) u sprečavanju gripe tipa A(H1N1)pdm09.

Ovi rezultati procjene djelotvornosti cjepiva odnose se na djelotvornost sezonskog inaktiviranog cjepiva protiv gripe za sezonu 2010.-11. u sprečavanju RT-PCR laboratorijski potvrđene gripe u bolesnika koji su zatražili liječničku pomoć zbog simptoma sličnih gripi u sezoni 2010.-11. u Hrvatskoj. Izvorna populacija iz koje bolesnici sa simptomima gripe dolaze liječniku jesu bolesnici koji su zbog simptoma sličnih gripi zatražili specijalističku liječničku pomoć, a čiji je respiratorni uzorak poslat u Nacionalni centar SZO za gripu pri HZJZ zbog utvrđivanja virusa influence.

Razlika u djelotvornosti cjepiva između grube i djelotvornosti cjepiva prilagođene za dob i kroničnu bolest je velika, u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa, 31,9% u usporedbi s

20,1% Ako se dalje izvrši prilagodba za mjesec uzimanja uzorka, djelotvornost cjepiva iznosi 18,9%. Potpuno prilagođena djelotvornost na kraju iznosi 20,7%. Pri tome treba naglasiti da je veličina uzorka relativno mala (N=495) i da intervali pouzdanosti uključuju 0. Broj ispitanika koji su cijepljeni također je mali što je već prikazano u tablici 15. Dob je najznačajniji čimbenik posredne povezanosti, povezan je i sa ishodom (RT-PCR potvrđenom gripom) i s cijepljenjem. U ovom istraživanju, starije osobe su imale veću šansu biti cijepljene protiv gripe i imale su manju šansu oboljeti od gripe (tablica 14). To je vjerojatno razlog što je dob bila čimbenik posredne povezanosti s pozitivnim djelovanjem. Slično je i s kroničnom bolesti kao čimbenikom posredne povezanosti. Naime u tablici 9 je bilo prikazano da je 9 od 12 cijepljenih slučajeva imalo barem 1 kroničnu bolest kao i podaci koji pokazuju da su takvi rizični ispitanici u ovom istraživanju imali u usporedbi s nerizičnim bolesnicima manju šansu oboljeti od gripe, ali veću šansu biti cijepljeni. Stoga je kronična bolest u ovom istraživanju bila također čimbenik posredne povezanosti s pozitivnim djelovanjem.

5.3.2. Djelotvornost cjepiva prema dobnim skupinama

Gruba djelotvornost cjepiva protiv gripe u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa bila je 65,1% (95%CI: -215,6-96,2) u dobnoj skupini 0-17 godina, -19,5% (95%CI: -240,6-58,1) u dobnoj skupini 18-64 godina i 48,7% (95%CI: -109,4-87,4) u dobnoj skupini 65 godina i više (tablica 18). Gruba djelotvornost cjepiva protiv gripe u sprečavanju gripe A(H1N1)pdm09 bila je 63,2% (95% CI: -236,1-96,0) u dobnoj skupini 0-17 godina, -27,6% (95%CI: -264,2-55,3) u dobnoj skupini 18-64 godina i 61,2% (95%CI: -97,3-92,4) u dobnoj skupini 65 godina i više.

Tablica 18. Gruba djelotvornost cjepiva protiv gripe u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa i gripe tipa A(H1N1)pdm09 prema dobnim skupinama, Hrvatska, sezona 2010.-11.

Dobna skupina	Gripa neovisno o tipu virusa			Gripa A(H1N1)pdm09		
	N	VE (%)	95%CI	N	VE (%)	95% CI
0-17	192	65,1	-215,6 – 96,2	183	63,2	-236,1-96,0
18-64	240	-19,5	-240,6 – 58,1	233	-27,6	-264,2-55,3
65+	63	48,7	-109,4 – 87,4	60	61,2	-97,3-92,4

U tablici 19 prikazan je postupak prilagodbe djelotvornosti cjepiva u dobnim skupinama 0-17, 18-64 i 65 i više godina putem multivarijatne logističke regresije u kojoj se vidi da je rezultate vrlo teško interpretirati.

Tablica 19. Gruba i prilagođena djelotvornost cjepiva protiv gripe u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa prema dobnim skupinama, Hrvatska, sezona 2010.-11.

Dobna skupina 0-17					Relativni % promjene OR ¹
	N	VE	95% CI	OR	
Gruba djelotvornost:	192	65,1	-218,6-96,2	0,35	
Djelotvornost prilagođena za:					
kroničnu bolest	192	64,1	-228,3-96,1	0,36	3
pušenje	192	65,4	-215,7-96,2	0,35	-1
spol	192	78,4	-101,6-97,7	0,22	-38
prethodno pand.cijep.	192	65,1	-218,6-96,2	0,35	0
mjesec uzimanja uzorka	192	63,7	-235,4-96,1	0,36	4
¹ relativni % promjene OR u odnosu na grubi OR					
Dobna skupina 18-64					Relativni % promjene OR ¹
	N	VE	95% CI	OR	
Gruba djelotvornost:	240	-19,5	-240,6-58,1	1,19	
Djelotvornost prilagođena za:					
kroničnu bolest	240	-36,3	-296,4-53,1	1,36	14
pušenje	240	-20,3	-243,2-57,9	1,20	1
a) spol	240	-20,6	-244,4-57,7	1,21	1
prethodno pand.cijep.	240	-20,2	-253,2-59,1	1,20	1
mjesec uzimanja uzorka	240	-19,2	-242,6-58,5	1,19	0
b) kroničnu bolest i mjesec uzimanja uzorka	240	-38,8	-307,4-52,7	1,39	2
kron. bolest i pand.cijep.	240	-38,0	-313,9-54,0	1,38	1
kroničnu bolest i pušenje	240	-37,3	-299,6-52,8	1,37	1
kroničnu bolest i spol	240	-36,9	-298,5-53,0	1,37	0
¹ Relativni % promjene OR pod a) je relativni postotak promjene OR u odnosu na grubi OR; pod b) je relativni postotak promjene OR u odnosu na OR prilagođen za kroničnu bolest					
Dobna skupina 65+					Relativni % promjene OR ¹
	N	VE	95% CI	OR	
Gruba djelotvornost:	63	48,7	-109,4-87,4	0,51	
Djelotvornost prilagođena za:					
pušenje	63	50,2	-104,4-87,9	0,50	-3
spol	63	47,5	-114,9-87,2	0,52	2
mjesec uzimanja uzorka	63	49,1	-114,5-87,9	0,51	2
¹ Relativni % promjene OR u odnosu na grubi OR					

U dobnoj skupini 0-17 uz mali broj ispitanika, vrlo je mali broj cijepljenih. Samo je pet ispitanika cijepljeno, svi ženskog spola. Ustvari prilagodba za kovarijante nije moguća, posebno ne za spol. Stoga je bolje uzeti u obzir samo grubu djelotvornost. U dobnoj skupini 18-64 cjepni obuhvat je ponovno vrlo nizak i 95% CI su vrlo široki. Nije vjerojatno da je u ovoj dobnoj skupini negativni VE. U ovoj je dobnoj skupini najveći broj neuspjeha cijepljenja (8 od 15 cijepljenih), tj. 53%. Djelotvornost cjepiva u dobnoj skupini 65 i više godina čini se razumna, no opet brojevi su vrlo mali.

Slučajevi gripe koji su prethodno bili cijepljeni su interesantni: iz tablice 20 vidljivo je da je većina neuspjeha cijepljenja u dobnoj skupini 18-64.

Tablica 20. Distribucija slučajeva gripe koji su prethodno cijepljeni po dobnim skupinama

Dobna skupina (god.)	Frekvencija	%	Kumulativno
0-17	1	8,33	8,33
18-64	8	66,67	75,00
65+	3	25,00	100,00
Ukupno	12	100,00	

Detaljnija dobna distribucija ispitanika s neuspješnim cijepljenjem prikazana je u tablici 21.

Tablica 21. Dobna distribucija po 7 dobnih skupina cijepljenih slučajeva gripe

Dobna skupina (god.)	kontrole	slučajevi	ukupno
0-	4	1	5
	80,00	20,00	100,00
30-	0	2	2
	0,00	100,00	100,00
40-	2	3	5
	40,00	60,00	100,00
50-	3	2	5
	60,00	40,00	100,00
60-	4	3	7
	57,14	42,86	100,00
70-	6	0	6
	100,00	0,00	100,00
80-	3	1	4
	75,00	25,00	100,00
Ukupno	22	12	34
	64,71	35,29	100,00

5.3.3. Djelotvornost cjepiva u rizičnih ispitanika

U rizičnoj podskupini imamo 220 ispitanika. Gruba djelotvornost cjepiva u sprečavanju gripe u rizičnoj podskupini neovisno o tipu virusa gripe bila je 30,8% (95%CI: -61,0–70,2), dok je djelotvornost cjepiva u sprečavanju gripe tipa A(H1N1)pdm09 bila 31,4% (95%CI: -65,0–71,5) (tablica 22). Djelotvornost cjepiva je prilagođena za dob, prisutnost kroničnih bolesti, spol, mjesec uzimanja uzorka i pušenje. Potpuno prilagođene procjene djelotvornosti cjepiva bile su 24,8% (95%CI: -81,0–68,7) u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa gripe i 24,9% (95%CI: -89,9–70,3) u sprečavanju gripe tipa A(H1N1)pdm09.

Tablica 22. Gruba i prilagođena djelotvornost cjepiva protiv gripe u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa i gripe tipa A(H1N1)pdm09 u podskupini rizičnih ispitanika kojima se preporuča cijepljenje, Hrvatska, sezona 2010.-11.

	Gripa neovisno o tipu virusa		Gripa tipa A(H1N1) pdm09	
	VE (%)	95% CI	VE (%)	95% CI
Analiza rizične podskupine				
Gruba djelotvornost	30,8	-61,0–70,2	31,4	-65,0–71,5
Djelotvornost prilagođena za:				
Dobnu skupinu	25,4	-76,9–68,5	24,9	-84,1–69,4
Kroničnu bolest	32,0	-60,3–70,4	32,6	-62,2–72,0
Mjesec uzimanja uzorka*	27,3	-70,3–69,0	27,1	-79,1–70,3
Spol	28,0	-68,3–69,2	29,1	-71,5–70,7
Pušenje	31,8	-59,1–70,7	32,3	-63,5–72,0
Dobnu skupinu + kroničnu bolest	27,4	-72,2–69,4	26,8	-79,5–70,2
Dobnu skupinu + kroničnu bolest + mjesec uzimanja uzorka*	25,4	-78,3–68,8	24,9	-88,0–70,0
Dobnu skupinu + kroničnu bolest + mjesec uzimanja uzorka* + spol	23,5	-83,3–68,1	23,1	-93,0–69,4
Dobnu skupinu + kronično stanje + mjesec uzimanja uzorka* + spol + pušenje	24,8	-81,0–68,7	24,9	-89,9–70,3

* travanj izbačen iz analize za gripu tipa A(H1N1)pdm09

5.3.4. Djelotvornost cjepiva prema tipu cjepiva

Procjena djelotvornosti cjepiva prema tipu cjepiva (neadjuvantirano/adjuvantirano) otežana je već kad su uračunati svi ispitanici ovog istraživanja zbog vrlo malih cjepnih obuhvata i iz dodatnog razloga što za devet ispitanika, koji su bili cijepljeni protiv gripe, tip cjepiva nije bio dokumentiran (tablica 23).

Tablica 23. Gruba i prilagođena djelotvornost neadjuvantiranog cjepiva protiv gripe u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa i gripe tipa A(H1N1)pdm09, Hrvatska, sezona 2010.-11.

	Gripa neovisno o tipu virusa		Gripa tipa A(H1N1) pdm09	
	VE (%)	95% CI	VE (%)	95% CI
Neadjuvantirano cjepivo				
Gruba djelotvornost	-13,6	-172,7–52,7	-9,0	-168,3–55,7
Djelotvornost prilagođena za:				
Dobnu skupinu	-16,9	-184,6–51,9	-12,2	-179,7–55,0
Kroničnu bolest	-21,9	-195,1–49,7	-19,2	-196,1–52,0
Mjesec uzimanja uzorka*	-12,4	-170,6–53,3	-5,5	-162,1–57,5
Spol	-17,8	-184,5–51,2	-11,9	-177,1–54,8
Pušenje	-13,7	-173,1–52,6	-9,0	-168,4–55,7
Dobnu skupinu + kroničnu bolest	-21,9	-197,5–50,0	-18,4	-196,3–52,7
Dobnu skupinu + kroničnu bolest + mjesec uzimanja uzorka*	-21,4	-196,7–50,3	-15,6	-192,2–54,1
Dobnu skupinu + kroničnu bolest + mjesec uzimanja uzorka* + spol	-24,1	-205,1–49,5	-17,4	-197,4–53,7
Dobnu skupinu + kronično stanje + mjesec uzimanja uzorka* + spol + pušenje	-24,4	-206,1–49,4	-17,5	-197,8–53,6

* travanj izbačen iz analize za gripu tipa A(H1N1)pdm09

Adjuvantiranim cjepivom nije cijepljen niti jedan slučaj. Egzaktnom logističkom regresijom dobila se gruba djelotvornost adjuvantiranog cjepiva u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa 76,2% (95%CI: -91,4-100).

Za dobnu skupinu 65 i više godina ne može se dobiti validna procjena djelotvornosti cjepiva niti usporediti djelotvornost neadjuvantiranog u odnosu na adjuvantirano cjepivo, jer su brojevi ispitanika prema tipu cjepiva premaleni (tablica 24).

Tablica 24. Cijepljeni ispitanici prema tipu cjepiva, statusu i dobnoj skupini

Tip cjepiva	Dobna skupina						Ukupno
	0-17		18-64		65+		
	slučajevi	kontrole	slučajevi	kontrole	slučajevi	kontrole	
neadjuvantirano	1	3	6	5	3	3	21
adjuvantirano	0	0	0	1	0	3	4
nepoznato	0	1	2	1	0	5	9

Neadjuvantiranim cjepivom cijepljen je 21 ispitanik, adjuvantiranim cjepivom samo četiri ispitanika, a tip cjepiva nije zabilježen u devet ispitanika. Niti jedan slučaj, bez obzira na dob, nije cijepljen adjuvantiranim cjepivom.

Zaključivanje o djelotvornosti neadjuvantiranog cjepiva u odnosu na djelotvornost adjuvantiranog cjepiva otežava činjenica da je u značajnog broja cijepljenih ispitanika tip cjepiva ostao nepoznat (u dva slučaja i u sedam kontrola). Čini se da adjuvantirano cjepivo ima bolju djelotvornost od neadjuvantiranog. To može biti zbog utjecaja vrlo niske djelotvornosti cjepiva u dobi od 18-64, a ispitanici te dobne skupine su svi osim jednog primili neadjuvantirano cjepivo. Je li tako niska djelotvornost cjepiva u toj dobnoj skupini posljedica upravo tipa cjepiva ili je posljedica nekog drugog razloga ne može se utvrditi.

Kako je niska djelotvornost cjepiva u toj dobnoj skupini zamijećena i u drugim zemljama iste sezone može se pretpostaviti da razlog nije tip cjepiva nego postoje neki drugi razlozi.

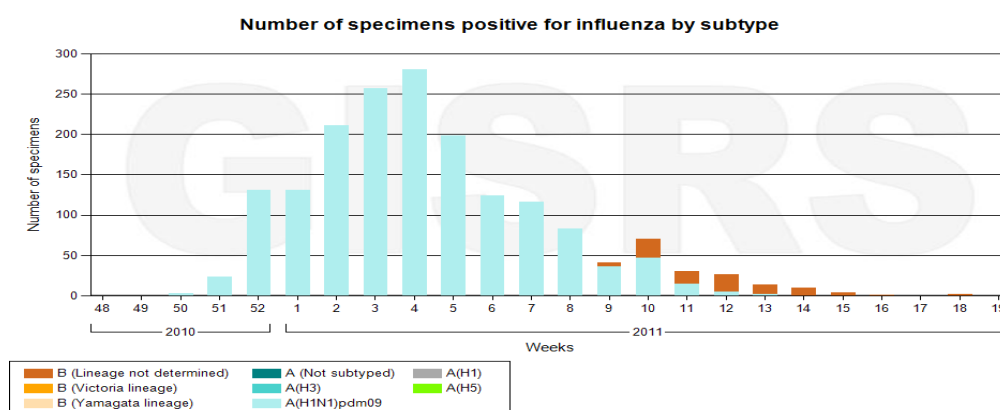
6. RASPRAVA

Sezona gripe 2010.-11. u Hrvatskoj, prema broju ILI prijava, nije značajnije odstupala od prethodnih sezona (slika 9). Broj prijava bio je podjednak kao i u pandemijskoj 2009. godini (58 234), no u pandemijskoj su godini te prijave bile raspoređene na veći broj tjedana.



Slika 9. Broj prijava bolesti slične gripi po godinama, Hrvatska, 1998.-2013.

U cirkulaciji je 2010.-11. prevladavao virus influence A(H1N1)pdm09, novi pandemijski virus. Virus influence B u Hrvatskoj detektiran je u cirkulaciji tek u zadnjem dijelu sezone, a sporadični slučajevi gripe uzrokovani virusom influence tipa B javljali su se sve do svibnja 2011. (slika 10).



Slika 10. Prikaz virološkog praćenja gripe u Hrvatskoj, SZO prema izvještajima Nacionalnog centra za influencu pri HZJZ, izvor: FluNet (www.who.int/flunet), GISRS

Sezona gripe 2010.-11. u Europi je započela u prosincu 2010. godine pa tako i u Hrvatskoj, no za razliku od Hrvatske u kojoj se vrhunac aktivnosti gripe javio uobičajeno, početkom veljače 2011. godine, prema izvješću SZO vrhunac aktivnosti gripe u sezoni 2010.-11. u Europskoj regiji bio je u 52.-om tjednu, što je iznenađujuće rano u usporedbi s uobičajenim sezonama (19). Sezona je u Europi, uključujući Hrvatsku, većim dijelom završila krajem ožujka 2011. godine. U Europi uz dominaciju A(H1N1)pdm09 virusa influence u cirkulaciji, utvrđen je i A(H3N2) virus te značajna kocirkulacija B virusa tijekom cijele sezone, što je bitna razlika u odnosu na prethodnu godinu. Dobne skupine zahvaćene virusom influence A(H1N1)pdm9 u sezoni 2010.-11. nisu se razlikovale od onih u pandemiji 2009. Najveći broj oboljelih bila su djeca, što govore i hrvatski podaci (tablica 1) i podaci iz Europe. Teške kliničke slike gripe zabilježene su u osoba mlađih od 65 godina, i to većinom u onih koji boluju od kroničnih bolesti, no klinička slika komplicirala se i u osoba bez predležućih bolesti. To je bila bitna razlika u odnosu na uobičajenu sezonsku gripu kod koje se najteži oblici bolesti viđaju u osoba starijih od 65 godina opterećenih kroničnim bolestima. Iako su, u sezoni 2010.-11., starije osobe imale manju šansu oboljeti od gripe, u slučaju obolijevanja, klinička je slika bila teška, odnosno češće su se javljale komplikacije (106).

Razumijevanje epidemiološke situacije je važno jer rezultati opservacijskih istraživanja procjene djelotvornosti cjepiva protiv gripe ovise o samoj sezoni i stoga se razlikuju od sezone do sezone, a i unutar jedne sezone postoje razlike među zemljama. Ispitanici u slučaj-kontrola istraživanjima procjene djelotvornosti cjepiva protiv gripe, osobe su koje su se zbog simptoma gripe obratile liječniku za pomoć, tako da takva istraživanja odražavaju zdravstveno ponašanje stanovništva u smislu traženja liječničke pomoći i zdravstvenu skrb o takvim bolesnicima, odnosno praksu u zemlji. U većini zemalja, ispitanici u test-negativnim slučaj-kontrola istraživanjima su bolesnici koji se zbog simptoma gripe javljaju liječnicima opće/obiteljske medicine, dok su u ovo istraživanje uglavnom bili uključeni bolesnici koji su se javili zbog simptoma gripe liječnicima u bolnicama. Ovakvu izvornu populaciju iz koje je odabran uzorak u Hrvatskoj odredila je sama praksa u Hrvatskoj jer je kao ishod koji se mjeri u ovom istraživanju, odabran ishod najveće specifičnosti, odnosno RT-PCR metodom potvrđena gripa, a respiratorni uzorci za utvrđivanje virusa influence ovom metodom najvećim dijelom dolaze iz bolnica.

Naime, u ovom istraživanju čak 98% uzoraka koji su obrađeni RT-PCR metodom u Nacionalnom centru SZO za influencu pri HZJZ poslano je iz bolnica. U Hrvatskoj je zanemariv broj uzoraka koje uzimaju liječnici primarne zdravstvene zaštite i šalju na

određivanje virusa influence u Nacionalni centar SZO za influencu. Okvirno, na temelju broja ILI prijava i broja uzoraka, može se reći da je skoro 7% oboljelih sa simptomima sličnim gripu u Hrvatskoj bilo laboratorijski obrađeno u Nacionalnom centru SZO za influencu, odnosno u skoro 4% je bila primijenjena RT-PCR metoda za utvrđivanje virusa influence.

U ovom istraživanju u analizu djelotvornosti cjepiva bilo je uključeno 495 ispitanika, odnosno oboljelih sa simptomima sličnim gripu. 98% tih ispitanika obrađeno je zbog simptoma sličnih gripu u prijemnim ambulancama ili na odjelima bolnica te je to vjerojatan razlog što ispitanici imaju određena obilježja, drugačija od ostalog hrvatskog stanovništva koje obolijeva od sezonske gripe, a ostaje kod kuće ili se javlja liječniku obiteljske medicine. Dobna distribucija populacije u istraživanju različita je od dobne distribucije hrvatskog stanovništva. Udio starijih osoba veći je u stanovništvu Hrvatske nego što je u populaciji u istraživanju što može objasniti niži cjepni obuhvat u istraživanju.

Udio rizične skupine kojoj se preporuča cijepljenje protiv gripe (osobe s barem 1 kroničnom bolesti i/ili dob >64 godine) veći je u ovom uzorku (44,4%) nego što je procjena udjela rizične skupine u Hrvatskoj u 2010.-11. (24%). Procjena rizične skupine u stanovništvu u svim je zemljama problem, a ovdje se procjena temelji na metodologiji Fleminga i Elliota iz 2006. godine koju je koristio Nicoll sa suradnicima, a po kojoj 8,3% populacije u dobi ispod 65 godina ima barem jednu kroničnu bolest, što je 368 309 osoba u Hrvatskoj. Taj se procijenjeni broj zbraja s brojem osoba koje su starije od 64 godina (693 540 osoba u Hrvatskoj prema cenzusu 2001. godine) te se dobije više od milijun stanovnika Hrvatske koji su pod povećanim rizikom od razvoja komplikacija gripe, odnosno 24% (108, 109). Ako se analizira samo dobna skupina do 65 godina u ovom istraživanju imamo 36,3% osoba koje imaju barem 1 kroničnu bolest što je značajno više od gore navedene procjene od 8,3%. Posebice je velik udio osoba s barem 1 kroničnom bolesti u dobnoj skupini 18-64 ovog uzorka (čak 46,7% ispitanika). To može ukazivati da je procjena djelotvornosti cjepiva protiv gripe u Hrvatskoj rađena na uzorku osoba koje su više opterećene kroničnim bolestima nego cjelokupna populacija Hrvatske i upravo su iz tog razloga, kad su razvile simptome gripe, te vulnerabilne skupine zatražile liječničku pomoć.

Osim toga, u ovom retrospektivnom istraživanju, uzorak je odabran nasumično iz skupine osoba kojima je zbog utvrđivanja virusa influence obrađen respiratorni uzorak, dok je u drugim istraživanjima u kojima je primijenjen test-negativni dizajn bilo sistematsko uzorkovanje. Znači protokol ovog istraživanja je drugačiji.

Kao što je ranije navedeno rezultati ovakih istraživanja ovise o stupnju podudaranja sojeva virusa influence u cjepivu i cirkulirajućih sojeva. Prema izvješću Community Network of Reference Laboratories for Human Influenza in Europe (CNRL), podudaranje cjepnih virusa i cirkulirajućih virusa influence tipa A i B u sezoni gripe 2010.-11. bilo je dobro (109). Izvješće CNRL-a iz ožujka 2011. godine o antigenskim analizama A(H1N1) virusa sadrži podatke o testiranim virusima influence iz Hrvatske (110). Podaci o dobrom podudaranju virusa u cirkulaciji u Hrvatskoj i cjepnih sojeva virusa opisani su i od hrvatskih autora (18). Sojevi virusa influence A(H1N1)pdm09 iz cirkulacije u Hrvatskoj u sekvencijskoj analizi HA i NA nisu se značajno razlikovali od drugih svjetskih sojeva. Sekvencijska analiza HA utvrdila je zamjenu aminokiselina S185T-grupe dok je u nekih bila prisutna i promjena D97N (18). U antigenskoj analizi hrvatski sojevi podudarali su se dobro s većinom tada aktualnih sojeva pandemijskog virusa. Na kraju sezone u Hrvatskoj su cirkulirali i virusi gripe B i to Victoria linije – B Brisbane, također podudarni sa sezonskim cjepivom protiv gripe. Ti podaci potvrđuju da je u Hrvatskoj bilo dobro podudaranje virusa u cirkulaciji s cjepnim sojevima virusa u cjepivu protiv gripe za sezonu 2010.-11. Broj okarakteriziranih sojeva iz Hrvatske je doduše malen te bi vjerojatno ubuduće trebalo potaknuti povećanje broja i reprezentativnosti virusnih sojeva iz Hrvatske.

Ovim istraživanjem primjenom test-negativne slučaj-kontrola metode zabilježena je niska djelotvornost sezonskog cjepiva protiv gripe u sezoni 2010.-11. u Hrvatskoj u ispitanika koji su se zbog simptoma gripe obratili liječniku za pomoć. Procjena grube VE u sprečavanju laboratorijski potvrđene gripe neovisno o tipu virusa gripe bila je 31,9% (95%CI: -40,9-67,1) za sve dobne skupine ispitanika (N=495), a prilagođena VE bila je 20,7% (95%CI: -71,4-63,3). Gruba djelotvornost cjepiva u sprečavanju laboratorijski potvrđene A(H1N1)pdm09 gripe za sve dobne skupine ispitanika bila je 33,4% (95%CI: -40,6-68,5), a prilagođena 17,3% (95%CI: -84,1-62,9). Procjene djelotvornosti cjepiva u sprečavanju sezonske gripe u sezoni 2010.-11. u Europi sugeriraju pak umjerenu djelotvornost trovalentnog inaktiviranog cjepiva u sprečavanju laboratorijski potvrđene gripe u Europi (111, 112). U europskoj multicentričnoj slučaj-kontrola studiji omogućeno je uključivanje puno većeg broj ILI ispitanika, njih 3254 te su dobivene procjene bile statistički značajne. Gruba VE u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa iznosila je 65,5% (95%CI: 53,2-74,6), dok je prilagođena VE iznosila 50,9% (95%CI: 25,2-67,7). Prilagođena VE protiv A(H1N1)pdm09 bila je 55,5% (95%CI: 28,7-72,2) (111).

U Hrvatskoj su dobno-specifične grube procjene djelotvornosti cjepiva protiv gripe bile više u dobnoj skupini 0-17 te u dobi 65 godina i više i iznosile su 65,1%, odnosno 48,7% kada se govori o djelotvornosti u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa, odnosno 63,2% i 61,2% kada se govori o djelotvornosti u sprečavanju gripe tipa A(H1N1)pdm09. Gruba procjena djelotvornosti cjepiva za dobnu skupinu 18-64 godine bila je -19,5% u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa i -27,6% u sprečavanju gripe tipa A(H1N1)pdm09, međutim intervali pouzdanosti bili su široki za sve dobno-specifične procjene.

Iako je preciznost procjena bila niska, procjene za dobne skupine 0-17 te 65 godina i više usporedive su s procjenama europske multicentrične slučaj-kontrola studije (111). U europskoj multicentričnoj studiji procjene djelotvornosti cjepiva u odrasloj dobi također su bile niže nego u mlađoj i starijoj dobnoj skupini: prilagođena VE protiv A(H1N1)pdm09 bila je 77,2% (95%CI: 16,0-93,8), 27,2% (95%CI: -37,1-61,4) i 72,3% (95%CI: 26,5-89,6) u dobnim skupinama 0-14, 15-59 i 60 i više godina. Dodatno, procjena djelotvornosti cjepiva protiv gripe u starijih osoba u ovom istraživanju usporediva je s rezultatima randomizirane kliničke studije koja je procjenjivala učinkovitost trovalentnog inaktiviranog cjepiva u sprečavanju serološki potvrđene infekcije virusom influence u starijih osoba (VE=58%; 95%CI: 26%-77%) (71), a isto tako i s američkom opservacijskom studijom koja je koristila test-negativni dizajn za procjenu djelotvornosti cjepiva protiv gripe u sezoni 2010.-11. u osoba 65 i više godina (VE=38%; 95%CI:-16% -67%) (81).

Na primjeru europske i američke opservacijske studije može se uočiti da rezultati procjena u određenim podskupinama stanovništva često ne dosižu statističku značajnost, jer se veličina uzorka, odnosno broj ispitanika, u podskupinama smanjuje. Autori koji su provodili ovakva istraživanja tijekom nekoliko sezona stekli su i više iskustva o samoj metodologiji.

Naime, veličina uzorka trebala bi biti značajno veća u situaciji kad se djelotvornost cjepiva približava nuli (113, 114). Tako se u nedavnom istraživanju u Kanadi usprkos značajnom povećanju uzorka nije uspio dobiti statistički značajan rezultat (114). Gilca i suradnici u svom radu 2015. godine navode da postoje tri moguća objašnjenja djelotvornosti cjepiva s negativnim predznakom: moguće je da se radi o šansi, odnosno statističkoj varijaciji šanse oko nule, o metodološkom biasu ili o stvarnom biološkom fenomenu (114). U Hrvatskoj je djelotvornost cjepiva u dobnoj skupini 18-64 godine iznosila -19,5% što se čini nerealnim. Biološki fenomen vjerojatno se može kao objašnjenje isključiti, jer su u drugim zemljama, u istoj sezoni, ipak pokazane bolje djelotvornosti cjepiva protiv gripe u toj dobnoj skupini (111, 112). Najvjerojatnije se radi o varijaciji šanse oko nule i/ili metodološkim razlozima. U toj

dobnoj skupini bilo je svega 240 ispitanika i samo je 15 cijepljeno: 8 slučaja i 7 kontrola. Kad bi se pretpostavilo da je kojim slučajem bilo obrnuto, znači da se cijepilo 7 slučaja i 8 kontrola OR bi bio 0,9148, odnosno VE bi bila 8,52% uz 95%CI: -160,76-67. Kad bi cjepivo bilo visoke djelotvornosti, na istom broju ispitanika (240) zbog drugačijeg omjera cijepljenih slučajeva i kontrola (npr. 3 i 12) dobili bismo statistički značajan rezultat (VE 73,86%, 95%CI: 4,87-92,82). S druge pak strane, kad bi cjepni obuhvat bio 60%, uzorak od samo 300 ispitanika bio bi dovoljan za utvrđivanje statistički značajne djelotvornosti cjepiva od barem 50%, sa snagom od 80%. U nekim zemljama takvi su cjepni obuhvati dosegnuti, no za Hrvatsku, u ovom trenutku, takav se cjepni obuhvat čini nedostižnim.

Time, procjena djelotvornosti postaje izrazito teška kad se radi o malom broju cijepljenih, a dobar primjer za to je procjena neadjuvantiranog cjepiva kojim je cijepljen svega 21 ispitanik u ovom istraživanju. Gruba djelotvornost neadjuvantiranog cjepiva za sve dobne skupine ispitanika (N=482) bila je -13,6% (95%CI:-172,7-52,7). Prilagodbom se dobila djelotvornost -24,4% (95%CI: -206,1-49,4). Adjuvantiranim cjepivom nije cijepljen niti jedan slučaj od svega 4 cijepljena ispitanika. Egzaktnom logističkom regresijom dobila se gruba djelotvornost adjuvantiranog cjepiva od 76,2% (95%CI: -91,4-100). Ovi rezultati mogli bi ukazati da adjuvantirano cjepivo ima bolju djelotvornost od neadjuvantiranog cjepiva, no to može biti tako zbog utjecaja vrlo niske djelotvornosti u dobi 18-64 u kojoj su svi osim jednog primili neadjuvantirano cjepivo. Ne može se utvrditi je li ovako niska djelotvornost u dobi 18-64 zbog tipa cjepiva ili nekih drugih razloga, no s obzirom na rezultate drugih studija provedenih te sezone u kojima je također zamijećena niska djelotvornost cjepiva u toj dobi, za pretpostaviti je da postoje drugi razlozi. Za značajan broj cijepljenih ispitanika nije se mogao utvrditi točan tip cjepiva (dva slučaja i sedam kontrola) što je moglo uzrokovati sistematsku pogrešku. Za dobnu skupinu ispitanika 65 i više godina zbog premalih brojeva ne može se dobiti validna procjena te se ne može utvrditi razlika u djelotvornosti neadjuvantiranog i adjuvantiranog cjepiva u dobi ispitanika 65 i više godina.

Valenciano i suradnici ističu u svom radu 2015. godine kako je procjena djelotvornosti cjepiva po tipu cjepiva velik izazov i za europske multicentrične studije jer su cjepni obuhvati u Europi niski i potreban je puno veći uzorak istraživanja koji je teško dosegnuti i kad se udruži nekoliko europskih zemalja (115).

Gruba djelotvornost cjepiva za rizičnu podskupinu ispitanika (N=220) nije bila bitno različita od procjene za sve ispitanike: 30,8% (95%CI: -61,0-70,2) u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa i 31,4% (95%CI: -65,0-71,5) u sprečavanju A(H1N1)pdm09 gripe. Nakon

prilagodbe, VE u rizičnoj podskupini bila je 24,8% (95%CI: -81,0-68,7) u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa i 24,9% (95%CI: -89,9-70,3) u sprečavanju A(H1N1)pdm09 gripe.

Iz svega onoga što je gore navedeno, rezultate ovog retrospektivnog istraživanja treba interpretirati oprezno jer je na preciznost procjene djelotvornosti cjepiva u Hrvatskoj utjecala veličina uzorka i cjepni obuhvat.

Naime, u Hrvatskoj se RT-PCR metoda koristila za utvrđivanje virusa influence u ograničenog broja oboljelih s ILI koji su zatražili liječničku pomoć, a i od tih oboljelih anketiran je samo dio bolesnika. Razlog tome je što je strukturirani upitnik primijenjen retrospektivno, nakon što je sezona gripe već završila te je samo uspostavljanje kontakta s oboljelima i telefonsko anketiranje predstavljalo izazov.

Cjepni obuhvat trovalentnim inaktiviranim sezonskim cjepivom protiv gripe u skupini kontrolnih ispitanika u ovom istraživanju bio je 8% što je manje od 10% koliko je iznosio cjepni obuhvat cjepivom protiv gripe te sezone u stanovništvu Hrvatske.

Upravo iz ovih razloga nije bilo moguće dobiti precizne rezultate analiza po podskupinama (rizičnim skupinama kojima se preporuča cijepljenje, po dobnim skupinama) i po tipu cjepiva.

Postavlja se pitanje koliko je uopće realno da će zemlja poput Hrvatske uopće moći samostalno provesti ovakvu studiju i dobiti statistički značajan rezultat. Stoga su ovdje prikazane dvije različite simulacije određivanja veličine uzorka za situacije da smo mogli npr. pretpostaviti pod 1. niži cjepni obuhvat uz istu VE i pod 2. niži cjepni obuhvat i nisku djelotvornost cjepiva (tablica 25). Tablica pokazuje da je kod niske djelotvornosti cjepiva potreban izuzetno velik uzorak da bi se dobio statistički značajan rezultat (preko 4 000 ispitanika), posebice ako je cjepni obuhvat nizak (vidjeti pod scenarij 2). Tako velik uzorak u Hrvatskoj ne bismo niti imali na raspolaganju jer se RT-PCR metoda niti ne koristi u tako velikom broju.

Tablica 25. Simulacije određivanja veličine uzorka

Scenarij	α	Snaga	S:K	Pretpostavka OR	Cjepni obuhvat u izvornoj populaciji/kontrolnoj skupini	Broj slučajeva	Broj kontrola
1.	0,05	80%	1:2	0,4	8%	338	677
2.	0,05	80%	1:2	0,7	8%	1565	3135

U ovom istraživanju djelotvornosti cjepiva u Hrvatskoj kao i u svim drugim opservacijskim studijama treba razmotriti uobičajene sistematske pogreške koje su opisali mnogi autori (67, 92, 105).

Liječnik je sam odlučivao o izboru bolesnika od kojih će uzeti uzorak za utvrđivanje virusa influence što je moglo uvesti sistematsku pogrešku. Ipak, uvođenje sistematske pogreške na ovaj način ne može se smatrati značajnim, jer liječnici u trenutku odluke nisu znali status bolesnika, odnosno je li on laboratorijski pozitivan na gripu ili negativan. Time se može pretpostaviti da je, ako i prisutna, sistematska pogreška izbora ispitanika (engl. *selection bias*) nasumično distribuirana (raspoređena).

Specifičnost ishoda utječe na procjenu djelotvornosti cjepiva (103). Ishod najviše specifičnosti je laboratorijski potvrđena gripa i zbog toga se preferira u istraživanjima djelotvornosti cjepiva (68). Metodu uzimanja uzorka treba standardizirati jer način uzimanja uzorka može utjecati na specifičnost ishoda (67). Moguće je da u ovom istraživanju uzimanje uzoraka nije bilo standardizirano te je uveden sistematska pogreška Kako bi se smanjila šansa uvođenja sistematske pogreške pogrešnog razvrstavanja ishoda (engl. *misclassification bias*), u analizu djelotvornosti cjepiva uključeni su samo ispitanici kojima je uzorak uzet unutar 7 dana od početka simptoma gripe (102, 114). Naime, kako protječe vrijeme od početka simptoma do uzimanja uzorka, osjetljivost laboratorijskog testa opada te bi to moglo utjecati na djelotvornost cjepiva u smislu da se djelotvornost podcijeni, odnosno procjena bude niža od realne, stvarne djelotvornosti (102).

Moguće je da je uvedena i pogreška prisjećanja (engl. *recall bias*) jer je strukturirani upitnik primjenjen u oboljelih naknadno, odnosno retrospektivno. Bolesnici su imali poteškoća u prisjećanju koliko je dana proteklo od početka simptoma do uzimanja uzorka (naime od 672 bolesnika koji su izabrani kao populacija za istraživanje, 177 se nije moglo prisjetiti intervala od početka simptoma do uzimanja uzorka za određivanje virusa influence). Bolesnici koji se nisu mogli prisjetiti tog intervala isključeni su iz analize djelotvornosti cjepiva. Također je moguće da se osobe koje su odgovorile na ovo pitanje razlikuju od osoba koje nisu odgovorile po cjepnom statusu i po statusu slučaj ili kontrola.

U istraživanju nije prikupljen podatak o primjeni antivirusnih lijekova (inhibitora neuraminidaze) te se utjecaj antivirusnih lijekova na izlučivanje virusa odnosno na rezultat laboratorijske obrade nije mogao procijeniti. Dodatno, u ovom istraživanju anketa je

provedena telefonom te je bilo nemoguće prikupiti sve podatke koji mogu biti čimbenici posredne povezanosti poput težine kronične bolesti ispitanika (uobičajeno je da se zabilježe hospitalizacije zbog kronične bolesti u posljednjih 12 mjeseci i funkcionalni status ispitanika), poput podatka o korištenju zdravstvenih usluga (uobičajeno je da se zabilježi ukupan broj posjeta liječniku u prethodnih 12 mjeseci). Stoga se može pretpostaviti da analizom nisu do kraja uklonjeni rezidualni čimbenici posredne povezanosti.

Ipak, s obzirom na dizajn upitnika uspjelo se prikupiti podatke o različitim potencijalnim čimbenicima posredne povezanosti i ti su podaci bili prikupljeni u potpunosti (100%), s iznimkom podatka o intervalu od početka simptoma do uzimanja uzorka.

Najjači čimbenik posredne povezanosti u ovom istraživanju bila je pripadnost određenoj dobnoj skupini. Procjena djelotvornosti cjepiva smanjila se za oko 9% kad je napravljena prilagodba za dob. U ovom istraživanju najviše pogođena skupina virusom gripe A(H1N1)pdm09 bila je mlađa dobna skupina, cjepni obuhvati bili su također različiti u različitim dobnim skupinama što je uzrokovalo posrednu povezanost.

Međutim, ovako relativno niska procjena djelotvornosti cjepiva protiv gripe u Hrvatskoj može se dodatno objasniti i s nekoliko faktora koji su sezonu gripe 2010.-2011. učinili jedinstvenom. Tijekom pandemije 2009.-2010., monovalentnim pandemijskim cjepivom cijepljeno je svega 0,4% stanovništva Hrvatske, što je značajno niže nego što je bila procijepljenost u drugim europskim zemljama (116). U ovom istraživanju od 495 ispitanika samo 6 ispitanika cijepljeno je pandemijskim cjepivom 2009. godine. Postoje istraživanja u kojima se utvrdila viša djelotvornost cjepiva u bolesnika koji su cijepljeni i sezonskim cjepivom 2010.-11. i monovalentnim pandemijskim cjepivom 2009. godine (112). Druga doza cjepiva djelovala je kao *booster* što su opisali i drugi autori (93, 94, 117). Kako većina ispitanika u ovom istraživanju nije cijepljena pandemijskim cjepivom, potencijalni *booster* učinak moguće nedostaje.

Treba spomenuti da je u sezoni gripe 2010.-11. u mnogim zemljama zabilježena niska ili umjerena djelotvornost cjepiva protiv gripe (90, 118). U nekim istraživanjima djelotvornosti cjepiva u sezoni 2010.-11. koje su provedene u sredini sezone gripe spominje se i moguća uloga antigenskih driftova i razlika među populacijama u istraživanju kao mogući faktori za objasniti nižu djelotvornost cjepiva protiv gripe u sezoni 2010.-11. u odnosu na djelotvornost pandemijskog cjepiva prethodne godine (119, 120). Kao što je primjećena razlika među populacijama u istraživanju između pandemijske godine i sezone 2010.-11. u Europi, tako postoji i razlika u populacijama koje su se istraživale u ovom istraživanju i europskoj

multicentričnoj studiji u istoj, 2010.-11., sezoni: u Hrvatskoj uzorci su uglavnom dolazili iz bolnica, a u Europi iz ordinacija liječnika obiteljske medicine; barem jednu kroničnu bolest imalo je 40,1% slučajaja i 47,1 % kontrola u Hrvatskoj, a u europskoj multicentričnoj studiji 11% slučajaja i 18,2% kontrola. U našem je uzorku znatan udio hospitaliziranih ispitanika (67,3%) - u dobi 65 i više godina 95% ispitanika je hospitalizirano. Obuhvat cijepljenjem rizične skupine u istraživanju bio je 12,7%, dok je obuhvat cijepljenjem u europskoj multicentričnoj studiji bio 35,9%. Temeljem tih podataka možemo zaključiti da je istraživanje u Hrvatskoj provedeno u vulnerabilnijih osoba ili u osoba koje su imale teže kliničke slike gripe. Takve je razlike između istraživanja u Kanadi i SAD-u zamijetio i McNeil sa suradnicima 2015. godine (113). U različitim se zemljama koriste i različita cjepiva protiv gripe: prema europskoj multicentričnoj studiji u sezoni 2010.-11. u osam zemalja koje su sudjelovale korišteno je 23 različita cjepiva, od toga 6 adjuvantiranih.

Uzimajući u obzir sva ograničenja ovog retrospektivnog test-negativnog slučaj-kontrola istraživanja, ovo istraživanje ima svoje prednosti: ovo je prvo istraživanje djelotvornosti cjepiva protiv gripe u Hrvatskoj koje je istražilo mogućnosti koje pruža epidemiološka metodologija. Dodatna snaga ovog istraživanja je što su podaci o mogućim čimbenicima posredne povezanosti prikupljeni s visokim udjelom, odnosno gotovo u potpunosti.

Ovakve inicijative će dati veće značenje razumijevanju epidemiologije gripe i epidemiološkom nadzoru nad gripom. U sezonama gripe kad je broj prijava oboljelih nizak, snaga malih istraživanja da uoče djelotvornost cjepiva može biti kompromitirana ili otežana (5). Zbog razlike u broju prijava oboljelih od bolesti slične gripi, zbog različitih tipova i podtipova virusa influence te razlika u podudaranju cjepnih virusa i cirkulirajućih virusa važno je procijenjivati djelotvornost cjepiva tijekom nekoliko sezona. Također je važno procijeniti djelotvornost cjepiva specifično za pojedine zemlje jer svaka zemlja ima svoje jedinstvene epidemiološke karakteristike: preporuke o cijepljenju razlikuju se među zemljama, razlikuju se i cjepiva koja se koriste, a koriste se i cjepiva različitih proizvođača. S druge pak strane kako bi se dobila procjena djelotvornosti cjepiva specifično za pojedini tip/podtip virusa influence i to u različitim dobnim skupinama i rizičnim skupinama i po tipu cjepiva s razumnom preciznošću, treba iskoristiti mogućnosti kojima se može povećati veličina uzorka. Stoga se danas podupiru inicijative kojima se stvara mreža stručnjaka među zemljama koja omogućuje provođenje zbirnih (engl. pooled) analiza na podacima koje dolaze iz nekoliko zemalja.

Usprkos niskim do umjerenim procjenama djelotvornosti cjepiva protiv gripe u sezoni 2010.-11., cjepivo protiv gripe treba smatrati najučinkovitijom mjerom prevencije gripe i njenih komplikacija, posebice za najosjetljivije podskupine u populaciji za koje gripa može biti fatalna. Američki CDC je na temelju modeliranja sugerirao da djelotvornost cjepiva od samo 10% u starijih odraslih osoba može spriječiti oko 13 000 hospitalizacija združenih s gripom u odraslih u dobi 65 i više godina u SAD-u tijekom umjereno teške sezone gripe kao što je bila sezona 2012.-13. (121).

7. ZAKLJUČAK

Rezultati istraživanja ukazuju da cjepiva protiv gripe smanjuju vjerojatnost obolijevanja od gripe potvrđene RT-PCR metodom u sezoni daljnje cirkulacije pandemijskog virusa u Hrvatskoj uz nisku procjenu djelotvornosti cjepiva u toj sezoni koja nije dosegla statističku značajnost.

1. Vjerojatnost obolijevanja od laboratorijski potvrđene gripe manja je za 31,9% (95%CI: -40,9-67,1) u osoba koje su zbog simptoma gripe u Hrvatskoj u sezoni 2010.-11. posjetile liječnika u bolnici bez neutralizacije čimbenika posredne povezanosti koji mogu mijenjati povezanost cijepljenja i gripe, odnosno manja je za 20,7% (95%CI: -71,4-63,3) u tih istih osoba ako neutraliziramo čimbenike posredne povezanosti.

Rezultate treba interpretirati s oprezom jer je na preciznost procjene djelotvornosti cjepiva utjecala veličina uzorka i cjepni obuhvat.

Na veličinu uzorka utjecao je retrospektivni karakter ovog istraživanja uz predodređeni broj osoba sa simptomima sličnim gripi koje su obrađivane RT-PCR metodom u sezoni 2010.-11. i koje se uspjelo retrogradno kontaktirati. Značajna karakteristika ovog istraživanja je veliki udio ispitanika koji su opterećeni kroničnim bolestima. Cjepni obuhvat među kontrolnim ispitanicima bio je vrlo nizak (8%), a i cjepni obuhvat u populaciji te sezone bio je niži nego prijašnjih godina.

2. U dobnim skupinama 0-17 godina i 65 i više godina gruba djelotvornost cjepiva protiv gripe u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa bila je viša nego u dobnoj skupini 18-64 godina: 65,1% (95%CI: -215,6-96,2) i 48,7% (95%CI: -109,4-87,4) u usporedbi s -19,5% (95%CI: -240,6-58,1). Dobno-specifične procjene djelotvornosti cjepiva bile su još manje precizne uz široke intervale pouzdanosti. Procjene za dobne skupine 0-17 te 65 i više godina usporedive su s procjenama europske multicentrične slučaj-kontrola studije u kojoj je također procjena u odraslih osoba niža nego u mlađoj i starijoj životnoj dobi.
3. Djelotvornost cjepiva u podskupini rizičnih ispitanika nije se bitno razlikovala od djelotvornosti procijenjene u svih ispitanika i bez neutralizacije čimbenika posredne povezanosti iznosila je 30,8% (95%CI: -61,0-70,2), a nakon neutralizacije 24,8% (95%CI: -81,0-68,7).

4. Adjuvantiranim cjepivom nije cijepljen niti jedan laboratorijski potvrđeni slučaj gripe u ovom istraživanju. Uz niske cjepne obuhvate nisu se dobila precizna mjerenja djelotvornosti cjepiva po tipu cjepiva (neadjuvantirano/adjuvantirano).

Preporuka je da se buduća istraživanja rade prema unaprijed predviđenom protokolu koji će definirati način odabira ispitanika, način uzimanja uzoraka te omogućiti prikupljanje što većeg broja karakteristika oboljelih koje mogu biti čimbenici posredne povezanosti u istraživanjima djelotvornosti cjepiva.

Nacionalni laboratorij SZO za gripu u Hrvatskoj zaprima uzorke za određivanje virusa influence uglavnom iz bolnica, nema jedinstvenih preporuka o načinu uzimanja uzoraka. Treba standardizirati način uzorkovanja jer vrijeme i način uzimanja, transportiranja uzorka i metoda koja se koristi mogu značajno utjecati na procjenu djelotvornosti cjepiva. Treba potaknuti standardizirani način uzimanja uzoraka i na razini primarne zdravstvene zaštite jer se na toj razini većinom ljudi cijepi protiv gripe, a i podaci o postojanju komorbiditeta i korištenju zdravstvenih usluga trebali bi biti sveobuhvatniji, što bi olakšalo provođenje ovakvih istraživanja.

Treba povećati broj i reprezentativnost virusnih sojeva koje se karakterizira (analizira) kako bi laboratorijske podatke mogli bolje integrirati u interpretaciju djelotvornosti cjepiva protiv gripe.

Kako bi se dobila preciznija mjerenja djelotvornosti cjepiva, posebice u određenim podskupinama i po tipu cjepiva treba povećati uzorak posebice uz niske cjepne obuhvate.

Među zemljama postoji velika varijabilnost u procjenama kao posljedica niskih cjepnih obuhvata i malih uzoraka nedovoljnih za stratifikaciju.

Stoga se preporuča uključanje u međunarodne mreže stručnjaka koji provode studije djelotvornosti cjepiva protiv gripe s uključivanjem zdravstvenih djelatnika iz Hrvatske jer ćemo dobiti preciznija mjerenja, a ujedno i osvijestiti važnost cijepljenja protiv gripe. Takvo povezivanje i umrežavanje stručnjaka u prikupljanju novih znanstvenih spoznaja postaje posebice važno u situaciji pada cjepnih obuhvata u mnogim zemljama kao posljedice narušenog povjerenja u cijepljenje, što onda neposredno otežava provođenje ovakvih istraživanja.

8. KRATKI SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU

U ovom retrospektivnom istraživanju korištena je test-negativna slučaj-kontrola (engl. *case-control*) metoda kako bi se procijenila djelotvornost sezonskog cjepiva protiv gripe u sezoni gripe 2010.-11. u Hrvatskoj. Bolesnici koji su se obratili liječniku zbog bolesti slične gripi i kojima je respiratorni uzorak laboratorijski ispitan na virus influence RT-PCR metodom, svrstani su u 2 skupine te su uspoređeni bolesnici s pozitivnim i bolesnici s negativnim RT-PCR nalazom. Strukturiranim upitnikom i pretraživanjem zdravstvenih kartona prikupljeni su podaci o cjepnom statusu i mogućim čimbenicima posredne povezanosti.

Provedena je kompletna analiza slučaja logističkom regresijom da bi se utvrdila prilagođena (engl. *adjusted*) djelotvornost cjepiva u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa, djelotvornost cjepiva u sprečavanju gripe uzrokovane A(H1N1)pdm09 virusom te u određenim dobnim podskupinama. Također je procijenjena djelotvornost cjepiva u podskupini rizičnih ispitanika te prema tipu cjepiva protiv gripe. Djelotvornost cjepiva je prilagođena za dob, prisutnost kroničnih bolesti, spol, mjesec uzimanja uzorka i pušenje. Od 785 intervjuiranih bolesnika, 495 je zadovoljilo kriterije uključivanja i uključeno je u istraživanje (217 slučajeva, od toga 92,6% A(H1N1)pdm09 pozitivni; 278 kontrola). Gruba (engl. *crude*) djelotvornost cjepiva je bila 31,9 % (95% CI: -40,9-67,1), a prilagođena (engl. *adjusted*) djelotvornost cjepiva je bila 20,7% (95%CI: -71,4-63,3), s višom djelotvornosti cjepiva među mlađim i starijim dobnim skupinama. U podskupini rizičnih ispitanika gruba djelotvornost cjepiva u sprečavanju gripe neovisno o tipu virusa je iznosila 30,8% (95%CI: -61,0–70,2), a prilagođena djelotvornost cjepiva je iznosila 24,8% (95%CI: -81,0–68,7). Veličina uzorka i niski cjepni obuhvat razlog su nepreciznosti procjena u ovom istraživanju.

Rezultati ovog istraživanja u Hrvatskoj sugeriraju nisku do umjerenu djelotvornost cjepiva protiv gripe u sezoni 2010.-11. Predlaže se ovu metodologiju procjene djelotvornosti cjepiva koristiti u narednim sezonama i to na većem uzorku kako bi se dobile preciznije procjene. Kako veličina uzorka ovisi o samoj aktivnosti gripe, cjepnim obuhvatima, karakteristikama virusa i mogućnostima određivanja virusa odgovarajućom laboratorijskom metodom predlaže se pridruživanje Hrvatske drugim zemljama koje su zainteresirane za nezavisne procjene djelotvornosti cjepiva.

9. SUMMARY

Title: Influenza vaccine effectiveness estimate in season 2010-11

Author: Sanja Kurečić Filipović

Year: 2016

This retrospective study using the test-negative case-control method estimated seasonal 2010-11 influenza vaccine effectiveness (VE) in Croatia. Among patients seeking a physician consultation for influenza-like illness (ILI) and from whom a swab was taken, we compared RT-PCR influenza-positive to RT-PCR influenza-negative ones. We used a structured questionnaire and physicians' records to obtain information on vaccination status and potential confounders. We conducted a complete case analysis using logistic regression to measure adjusted vaccine effectiveness (VE) overall, against A(H1N1)pdm09 and among age groups. We estimated VE in risk groups recommended for influenza vaccination and VE of different types of vaccines. VE was adjusted for age, presence of a chronic condition, sex, month of specimen collection and smoking status (current vs. non-current smoker). Out of 785 interviewed patients, 495 were eligible for inclusion in the study, after applying exclusion criteria (217 cases, of which 92.6% A(H1N1)pdm09 positive; 278 controls). Crude VE was 31.9 % (95% CI -40.9-67.1) and adjusted VE was 20.7% (95%CI -71.4-63.3), with higher VE among youngest and oldest age groups. In risk groups crude VE was 30.8% (95% CI -61.0–70.2 and adjusted VE was 24.8% (95%CI -81.0–68.7). The sample size and low influenza vaccination coverage are the reasons for imprecise estimations in this study.

Results from this first VE study in Croatia suggest a low to moderate VE for the 2010-11 season. Due to the fact that sample size is dependent on influenza activity, vaccination coverage, virus characteristics and possibilities to detect influenza virus with adequate laboratory procedures, it is recommended to include Croatia in the studies with other countries that are interested to provide independent vaccine effectiveness estimates.

Sanja Kurečić Filipović, Zagreb, 2016

10. LITERATURA

1. Cox NJ, Subbarao K. Influenza. *Lancet* 1999;354:1277–82.
2. Doherty PC, Turner SJ, Webby RG, Thomas PG. Influenza and the challenge for immunology. *Nat Immunol* 2006; 7:449-55.
3. Khan K, Arino J, Hu W., et al.: Spread of a novel influenza A (H1N1) virus via global airline transportation. *N Engl J Med* 2009;361(2):212-4.
4. World Health Organization. Influenza. *Wkly Epidemiol Rec* 2002;77:77-8.
5. Fiore AE, Bridges CB, Katz JM, Cox NJ. Inactivated influenza vaccines. U: Plotkin S, Orenstein W, Offit P, ed. *Vaccines*. 6th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2013, str. 257-93.
6. Dawood FS, Jain S, Finelli L, et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A(H1N1) virus in humans. *N Engl J Med* 2009;360:2605-15.
7. World Health Organization. New influenza A (H1N1) virus: global epidemiological situation, June 2009. *Wkly Epidemiol Rec* 2009;84:249-57.
8. Garten RJ, Davis CT, Russell CA, et al. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 2009;325:197-201.
9. Miller E, Hoschler K, Hardelid P, et al. Incidence of 2009 pandemic influenza A H1N1 infection in England: a cross-sectional serological study. *Lancet* 2010;. 375:1100-8 .
10. Rizzo C, Rota MC, Bella A, et al. Cross-reactive antibody responses to the 2009 A/H1N1v influenza virus in the Italian population in the pre-pandemic period. *Vaccine* 2010; 28:3558-62.
11. Hancock K, Veguilla V, Lu X, et al. Cross-reactive antibody responses to the 2009 pandemic H1N1 influenza virus. *N Engl J Med* 2009; 361:1945-52.
12. Jain S, Kamimoto L, Bramley AM, et al. Hospitalized patients with 2009 H1N1 influenza in the United States, April-June 2009. *N Engl J Med* 2009; 361:1935-44.
13. Centers for Disease Control and Prevention. Estimates of 2009 H1N1 Influenza Cases, Hospitalizations and Deaths in the United States, April-October 17, 2009.

[citirano 11 May 2012] Dostupno na
www.cdc.gov/h1n1flu/estimates_2009_h1n1.htm.

14. Fowlkes AL, Arguin P, Biggerstaff MS, et al. Epidemiology of 2009 pandemic influenza A (H1N1) deaths in the United States, April-July 2009. *Clin Infect Dis* 2011; 52:S60-8.
15. Jhung MA, Swerdlow D, Olsen SJ, et al. Epidemiology of 2009 pandemic influenza A (H1N1) in the United States. *Clin Infect Dis* 2011; 52:S13-S26 .
16. Čeljuska-Tošev E, Kuzman I, Knezović I i sur. Kliničke i epidemiološke značajke hospitaliziranih bolesnika s pandemijskom influencom A(H1N1)2009. *Infekt Glasn* 2010;30:149-59.
17. Kutleša M, Filar B, Mardešić P. Ekstrakorporalna membranska oksigenacija u liječenju akutnoga respiratornog distres sindroma uzrokovanog pandemijskim virusom influence H1N1. *Medicus* 2011;20(1):83-6.
18. Draženović V, Barišić A. Virusi influence – osobitosti cirkulirajućih sojeva u sezoni 2010/11. *Medicus* 2011;20(1):5-11.
19. World Health Organisation. Epidemiological and virological situation update of the 2010/2011 influenza season. February 10, 2011
20. Seasonal influenza 2011-12 in Europe (EU/EEA countries) : Risk assessment, 9 March 2012 Stockholm: European Center for Disease Prevention and Control (ECDC); 2012. [citirano: Lipanj 21, 2015.] Dostupno na:
<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/120312-TER-Seasonal-influenza-risk-assessment.pdf>.
21. CDC. Update: Influenza Activity—United States, October 2, 2011—February 11, 2012. *MMWR* 2012;61:123–8.
22. Fiore AE, Uyeki TM, Broder K, et al. Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. *MMWR Recomm Rep* 2010; 59 (RR-8):1-62.
23. Osterholm MT, Kelley NS, Sommer A, Belongia EA. Efficacy and effectiveness of influenza vaccines: a systematic review and meta-analysis. *Lancet InfectDis* 2012; 12(1):36-44.

24. Beyer WE, de Bruijn IA, Palache AM, et al. The plea against annual influenza vaccination? "The Hoskins' Paradox" revisited. *Vaccine* 1998; 16:1929-32.
25. Hoskins TW, Davies JR, Allchin A, et al. Controlled trial of inactivated influenza vaccine containing the a-Hong Kong strain during an outbreak of influenza due to the a-England-42-72 strain. *Lancet* 1973; 2:116-20.
26. Hoskins TW, Davies JR, Smith AJ, et al. Assessment of inactivated influenza-A vaccine after three outbreaks of influenza A at Christ's Hospital. *Lancet* 1979; 1:33-5.
27. Rota PA, Hemphill ML, Whistler T, et al. Antigenic and genetic characterization of the haemagglutinins of recent cocirculating strains of influenza B virus. *J Gen Virol* 1992; 73 (pt 10):2737-42.
28. World Health Organization (WHO). Recommended viruses for influenza vaccines for use in the 2010-2011 northern hemisphere influenza season. Geneva: World Health Organization; 18 February 2010 (revised 5 March 2010). Dostupno na: http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/201002_Recommendation.pdf. Pristupljeno: Travanj 15, 2013.
29. Frey S, Vesikari T, Szymczakiewicz-Multanowska A, et al. Clinical efficacy of cell culture-derived and egg-derived inactivated subunit influenza vaccines in healthy adults. *Clin Infect Dis* 2010; 51:997-1004.
30. Barrett PN, Berezuk G, Fritsch S, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of a Vero-cell-culture-derived trivalent influenza vaccine: a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2011; 377:751-9.
31. Lakey DL, Treanor JJ, Betts RF, et al. Recombinant baculovirus influenza A hemagglutinin vaccines are well tolerated and immunogenic in healthy adults. *J Infect Dis* 1996; 174:838-41.
32. Frace AM, Klimov AI, Rowe T, et al. Modified M2 proteins produce heterotypic immunity against influenza A virus. *Vaccine* 1999; 17:2237-44.
33. Ziegler T, Cox NJ. Influenza viruses. U: Murray P.R. Baron E.J.Pfaller M.A. et al. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington : ASM Press Washington, DC;2007. Str. 928-35.

34. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Committee for Proprietary Medicinal Products. Note for guidance on harmonization of requirements for influenza vaccines : CPMP/BWP/214/96 1997. London:European Medicines Agency;1997. [citirano lipanj 22, 2015.] Dostupno na:
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003945.pdf.
35. Gerhard W. The role of the antibody response in influenza virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 2001;260:171-90.
36. Davies JR, Grill EA. Natural or vaccine-induced antibody as a predictor of immunity in the face of natural challenge with influenza viruses. *Epidemiol Infect* 1989;102(2):325-33.
37. McMichael AJ, Gotch F, Cullen P, et al. The human cytotoxic T cell response to influenza A vaccination. *Clin Exp Immunol* 1981; 43:276-84.
38. Powers DC, Belshe RB. Effect of age on cytotoxic T lymphocyte memory as well as serum and local antibody responses elicited by inactivated influenza virus vaccine. *J Infect Dis* 1993; 167:584-92.
39. McElhaney JE, Xie D, Hager WD, et al. T cell responses are better correlates of vaccine protection in the elderly. *J Immunol* 2006; 176:6333-9.
40. Ohmit SE, Petrie JG, Cross RT, et al. Influenza hemagglutination-inhibition antibody titer as a correlate of vaccine-induced protection. *J Infect Dis* 2011; 204:1879-85.
41. European Medicines Agency. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for Medicinal Products for Human Use. Concept paper on the revision of guidelines for influenza vaccines : EMA/CHMP/VWP/734330/2011. London: European Medicines Agency;2011.
42. European Medicines Agency .The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for Medicinal Products for Human Use. Explanatory note on the withdrawal of the Note for guidance on harmonisation of requirements for influenza Vaccines and of the core SmPC/PL for inactivated seasonal influenza vaccines :EMA/CHMP/VWP/40560/2014. London: European Medicines Agency;2014.

43. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for Medicinal Products for Human Use. Guideline on influenza vaccines (draft). EMA/CHMP/VWP/457259/2014. London: European Medicines Agency;2014.
44. Voordouw ACG, Beyer WEP, Smith DJ et al. Evaluation of serological trials submitted for annual re-licensure of influenza vaccines to regulatory authorities between 1992 and 2002. *Vaccine* 2010; 28:392–7.
45. Cox RJ, Brokstad KA, Zuckerman MA, et al. An early humoral immune response in peripheral blood following parenteral inactivated influenza vaccination. *Vaccine*. 1994;12:993-9.
46. Gross PA, Russo C, Dran S, et al. Time to earliest peak serum antibody response to influenza vaccine in the elderly. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4:491-2.
47. Sasaki S, Sullivan M, Narvaez CF, et al. Limited efficacy of inactivated influenza vaccine in elderly individuals is associated with decreased production of vaccine-specific antibodies. *J Clin Invest* 2011; 121:3109-19.
48. Neuzil KM, Jackson LA, Nelson J, et al. Immunogenicity and reactogenicity of 1 versus 2 doses of trivalent inactivated influenza vaccine in vaccine-naive 5-8-year-old children. *J Infect Dis* 2006; 194:1032-9.
49. Ritzwoller DP, Bridges CB, Shetterly S, et al. Effectiveness of the 2003-2004 influenza vaccine among children 6 months to 8 years of age, with 1 vs 2 doses. *Pediatrics* 2005; 116:153-9.
50. Cate TR, Couch RB, Parker D, et al. Reactogenicity, immunogenicity, and antibody persistence in adults given inactivated influenza virus vaccines: 1978. *Rev Infect Dis* 1983; 5:737-47.
51. Quinnan GV, Schooley R, Dolin R, et al. Serologic responses and systemic reactions in adults after vaccination with monovalent A/USSR/77 and trivalent A/USSR/77, A/Texas/77, B/Hong Kong/72 influenza vaccines. *Rev Infect Dis* 1983; 5:748-57.
52. Wright PF, Cherry JD, Foy HM, et al. Antigenicity and reactogenicity of influenza A/USSR/77 virus vaccine in children: a multicentered evaluation of dosage and safety. *Rev Infect Dis* 1983; 5:758-64.
53. Zhu FC, Wang H, Fang HH, et al. A novel influenza A (H1N1) vaccine in various age groups. *N Engl J Med* 2009; 361:2414-23.

54. Couch RB, Winokur P, Brady R, et al. Safety and immunogenicity of a high dosage trivalent influenza vaccine among elderly subjects. *Vaccine* 2007; 25:7656-63.
55. Falsey AR, Treanor JJ, Tornieporth N, et al. Randomized, double-blind controlled phase 3 trial comparing the immunogenicity of high-dose and standard-dose influenza vaccine in adults 65 years of age and older. *J Infect Dis* 2009; 200:172-80.
56. Keitel WA, Atmar RL, Cate TR, et al. Safety of high doses of influenza vaccine and effect on antibody responses in elderly persons. *Arch Intern Med* 2006; 166:1121-7.
57. Grohskopf LA, Shay DK, Shimabukuro TT, et al. Prevention and control of seasonal influenza with vaccines: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) – United States 2013-2014. *MMWR Recomm Rep* 2013; 62 (7):1-44.
58. Belongia EA, Kieke BA, Donahue JG, et al.: Effectiveness of inactivated influenza vaccines varied substantially with antigenic match from the 2004-2005 season to the 2006-2007 season. *J Infect Dis* 2009; 199:159-67.
59. Skowronski DM, Janjua NZ, De Serres G, et al. Interim estimates of influenza vaccine effectiveness in 2012/13 from Canada's sentinel surveillance network, January 2013. *Euro Surveill.* 2013[citirano lipanj 22, 2015];18(5):pii=20394. Dostupno na: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20394>
60. Pebody RG, Warburton F, Ellis J, Andrews N, Thompson C, von Wissmann B, Green HK, Cottrell S, Johnston J, de Lusignan S, Moore C, Gunson R, Robertson C, McMenamin J, Zambon M. Low effectiveness of seasonal influenza vaccine in preventing laboratory-confirmed influenza in primary care in the United Kingdom: 2014/15 mid-season results. *Euro Surveill.* 2015[citirano lipanj 22, 2015];20(5):21025. Dostupno na: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=21025>
61. Smith DJ, Forrest S, Ackley DH, Perelson AS. Variable efficacy of repeated annual influenza vaccination. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999;96(24):14001-6
62. Nichol KL. Heterogeneity of influenza case definitions and implications for interpreting and comparing study results. *Vaccine* 2006;24:6726–8.

63. Jackson LA, Jackson ML, Nelson JC, Neuzil KM, Weiss NS. Evidence of bias in estimates of influenza vaccine effectiveness in seniors. *Int J Epidemiol* 2006;35:337–44.
64. Simonsen L, Taylor RJ, Viboud C, Miller MA, Jackson LA. Mortality benefits of influenza vaccination in elderly people: an ongoing controversy. *Lancet Infect Dis* 2007;7:658–66.
65. Coleman LA, Kieke B, Irving S, et al.: Comparison of influenza vaccine effectiveness using different methods of case detection: clinician-ordered rapid antigen tests vs. active surveillance and testing with real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction (rRT-PCR). *Vaccine* 2011;29:387-90.
66. Ellis J, Iturriza M, Allen R, et al. Evaluation of four real-time PCR assays for detection of influenza A(H1N1)v viruses. *Euro Surveill*. 2009[citirano lipanj 22, 2015];14(22):pii=19230. Dostupno na: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19230>)
67. Valenciano M, Kissling E, Ciancio BC, Moren A. Study designs for timely estimation of influenza vaccine effectiveness using European sentinel practitioner networks. *Vaccine*. 2010;28(46):7381-8.
68. Orenstein EW, De Serres G, Haber MJ, et al. Methodologic issues regarding the use of three observational study designs to assess influenza vaccine effectiveness. *Int J Epidemiol* 2007; 36:623-31.
69. Jefferson T, Di Pietrantonj C, Rivetti A, Bawazeer GA, Al-Ansary LA, Ferroni E. Vaccines for preventing influenza in healthy adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2010:CD001269.
70. World Health Organization: Vaccines against influenza. *Wkly Epidemiol Rec* 2012; 87:461-76.
71. Govaert TM, Thijs CT, Masurel N, et al. The efficacy of influenza vaccination in elderly individuals: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *JAMA* 1994;272:1661-5.
72. Wongsurakiat P, Maranetra KN, Wasi C, et al. Acute respiratory illness in patients with COPD and the effectiveness of influenza vaccination: a randomized controlled study. *Chest* 2004; 125:2011-20.

73. Cates CJ, Jefferson TO, Rowe BH. Vaccines for preventing influenza in people with asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2008:CD000364.
74. Warren-Gash C, Smeeth L, Hayward AC. Influenza as a trigger for acute myocardial infarction or death from cardiovascular disease: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2009;9:601–10.
75. Fireman B, Lee J, Lewis N, Bembom O, van der Laan M, Baxter R. Influenza vaccination and mortality: differentiating vaccine effects from bias. *Am J Epidemiol* 2009;170:650–6.
76. Eliakim-Raz, Vinograd I, Zalmanovici Trestioreanu A, Leibovici L, Paul M. Influenza vaccines in immunosuppressed adults with cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;10:CD008983.
77. Jefferson T, Rivetti A, Di Pietrantonj C, Demicheli V, Ferroni E. Vaccines for preventing influenza in healthy children. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;8:CD004879.
78. Katayose M, Hosoya M, Haneda T, et al. The effectiveness of trivalent inactivated influenza vaccine in children over six consecutive influenza seasons. *Vaccine* 2011; 29:1844-9.
79. Hoberman A, Greenberg DP, Paradise JL, et al. Effectiveness of inactivated influenza vaccine in preventing acute otitis media in young children: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003; 290:1608-16.
80. Vesikari T, Knuf M, Wutzler P, et al. Oil-in-water emulsion adjuvant with influenza vaccine in young children. *N Engl J Med* 2011;365:1406–16.
81. Treanor JJ, Talbot HK, Ohmit SE, et al. Effectiveness of seasonal influenza vaccines in the United States during a season with circulation of all three vaccine strains. *Clin Infect Dis* 2012;55:951–9.
82. Steinhoff MC, Omer SB, Roy E, et al. Influenza immunization in pregnancy: antibody responses in mothers and infants. *N Engl J Med* 2010; 362:1644-6.
83. Zaman K, Roy E, Arifeen SE, et al. Effectiveness of maternal influenza immunization in mothers and infants. *N Engl J Med* 2008; 359:1555-64.

84. Eick AA, Uyeki TM, Klimov A, et al. Maternal influenza vaccination and effect on influenza virus infection in young infants. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2011; 165:104-11.
85. Englund JA, Walter E, Black S, et al. Safety and immunogenicity of trivalent inactivated influenza vaccine in infants: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29:105-10 .
86. Foy HM, Cooney MK, McMahan R. A Hong Kong influenza immunity three years after immunization. *JAMA* 1973; 226:758-61.
87. Couch RB, Keitel WA, Cate TR. Prevention of influenza virus infections by current inactivated influenza vaccines. U: Brown LE, Hampton AW, Webster RG. *Options for the Control of Influenza III*. Amsterdam: Elsevier Science; 1996. Str.97-106.
88. European Commission. Proposal for a Council recommendation on seasonal influenza vaccination, COM(2009)353/final/2,(2009) [citirano : Lipanj 15, 2011]
Dostupno na:
http://ec.europa.eu/health/ph_threats/com/Influenza/docs/seasonflu_rec2009_en.pdf.
89. Valenciano M, Ciancio BC, Moren A. Influenza Vaccine Effectiveness Working Group. First steps in the design of a system to monitor vaccine effectiveness during seasonal and pandemic influenza in EU/EEA Member States. *Euro Surveill* 2008; 13(43): 515-22.
90. Steens A, van der Hoek W, Dijkstra F, van der Sande M. Influenza vaccine effectiveness, 2010/2011. *Euro Surveill* 2011; 16(15): 197-8.
91. Kissling E, Valenciano M, Falcão JM, et al. “I-MOVE” towards monitoring seasonal and pandemic influenza vaccine effectiveness: lessons learnt from a pilot multi-centric case-control study in Europe, 2008-9. *Euro Surveill*. 2009[citirano : Lipanj 15, 2011];14(44):pii=19388. Dostupno na:
<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19388>
92. Valenciano M, Kissling E, Cohen J-M, Oroszi B, Barret A-S, Rizzo C, et al. Estimates of Pandemic Influenza Vaccine Effectiveness in Europe, 2009–2010: Results of Influenza Monitoring Vaccine Effectiveness in Europe (I-MOVE) Multicentre Case-Control Study. *PLoS Med* 2011; 9(1): e1000388.
doi:10.1371/journal.pmed.1000388

93. Pebody R, Hardelid P, Fleming D, et al. Effectiveness of seasonal 2010/11 and pandemic influenza A(H1N1)2009 vaccines in preventing influenza infection in the United Kingdom: mid-season analysis 2010/11 . Eurosurveillance 2011; 16: pii=19791.
94. Castilla J, Moran J, Martinez-Artola V, et al. Effectiveness of trivalent seasonal and monovalent influenza A(H1N1)2009 vaccines in population with major chronic conditions of Navarre, Spain: 2010/11 mid-season analysis. Eurosurveillance 2011; 16: pii=19799.
95. Centers for Disease Control and Prevention (CDC)[internatska stranica]. Vaccine Effectiveness - How Well Does the Flu Vaccine Work? [citirano lipanj 21 2011] Dostupno na: <http://www.cdc.gov/flu/about/qa/vaccineeffect.htm>
96. Zakon o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti. Narodne novine 2007; 79 [08.07.2007.] Dostupno na: <http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/298921.html>
97. Gjenero-Margan I, Aleraj B, Kaić B, et al. Influenza epidemiology in Croatia and preparations for potential pandemic. Rad Hrvatske Akademije znanosti i umjetnosti Medicinske znanosti 2006; 496(30): 25-35.
98. Ministarstvo zdravlja, Hrvatska. Zakon o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti. Narodne novine 2007; 79
99. Ministarstvo zdravlja, Hrvatska. Lista zaraznih bolesti čije je sprečavanje i suzbijanje od interesa za RH. Narodne novine:2014; 60
100. European Commission. Commission Decision of 28 April 2008 amending decision 2002/253/EC laying down case definitions for reporting communicable diseases to the Community network under Decision No 2119/98/EC of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Union. 2008. [Pristupljeno: Travanj 15, 2013.] :EN:PDF
101. Kaić B. Cijepljenje protiv influence. Medicus 2011; 20: 101-8.
102. Hien TT, Boni MF, Bryant JE, et al. Early pandemic influenza (2009 H1N1) in Ho Chi Minh City, Vietnam: a clinical, virological and epidemiological analysis; PLoS Med 2010 May 18;7(5):e1000277. doi: 10.1371/journal.pmed.1000277. PMID: 20502525

103. Orenstein WA, Bernier RH, Donero TJ, et al. Field evaluation of vaccine efficacy. *Bulletin of the World Health Organization* 1985; 63:1055-68.
104. Nichol KL, Nordin JD, Nelson DB, et al. Effectiveness of influenza vaccine in the community-dwelling elderly. *N Engl J Med* 2007; 357:1373-81.
105. Hak E, Verheij TJ, Grobbee DE, et al. Confounding by indication in non-experimental evaluation of vaccine effectiveness: the example of prevention of influenza complications. *J Epidemiol Community Health* 2002; 56:951-5.
106. The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Annual epidemiological report: Reporting on 2010 surveillance data and 2011 epidemic intelligence data, 2012, March 2013. Stockholm: The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC); 2013. [Pristupljeno: Lipanj 5, 2013] Dostupno na: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Annual-Epidemiological-Report-2013.pdf>
107. Nicoll A, Ciancio BC, Tsoлова S, Blank PR, Yilmaz C. The scientific basis for offering seasonal influenza immunisation to risk groups in Europe. *Euro Surveill* 2008;13(43):pii=19018.
108. Fleming DM, Elliot AJ. Estimating the risk population in relation to influenza vaccination policy. *Vaccine* 2006;24:4378-85.
109. European Center for Disease Prevention and Control (ECDC). Community Network of Reference Laboratories (CNRL) for Human influenza in Europe. Influenza virus characterisation. Summary Europe, July 2011. Stockholm: The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC); 2013. [Pristupljeno: Lipanj 5, 2012] Dostupno na: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/influenza-virus-characterisation-CNRL-dec-2012.pdf>.
110. European Center for Disease Prevention and Control (ECDC). Community Network of Reference Laboratories (CNRL) for Human influenza in Europe. Influenza virus characterisation. Summary Europe, March 2011. Stockholm: The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC); 2013. [Pristupljeno: Lipanj 5, 2012] Dostupno na: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/influenza-virus-characterisation-CNRL-dec-2012.pdf>.

111. Kissling E, Valenciano M, Cohen JM, et al. I-MOVE Multi-Centre Case Control Study 2010-11: Overall and Stratified Estimates of Influenza Vaccine Effectiveness in Europe. *PLOS ONE* 2011;6(11):e27622.
112. Jiménez-Jorge S, Savulescu C, Pozo F, et al. The cycEVA Study Team; on behalf of the Spanish Influenza Sentinel Surveillance System. Effectiveness of the 2010–11 seasonal trivalent influenza vaccine in Spain: cycEVA study. *Vaccine* 2012; 30: 3595-602.
113. McNeil SA, Andrew MK, Ye L, et al. Interim estimates of 2014/15 influenza vaccine effectiveness in preventing laboratory-confirmed influenza-related hospitalisation from the Serious Outcomes Surveillance Network of the Canadian Immunization Research Network, January 2015. *Euro Surveill* 2015;20(5):pii=21024. doi: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES2015.20.5.21024>
114. Gilca R, Skowronski DM, Douville-Fradet M, Amini R, Boulianne N, Rouleau I, et al. Mid-Season Estimates of Influenza Vaccine Effectiveness against Influenza A(H3N2) Hospitalization in the Elderly in Quebec, Canada, January 2015. *PLoS ONE* 2015;10(7): e0132195. doi:10.1371/journal.pone.0132195
115. Valenciano M, Kissling E, Reuss A, et al. The European I-MOVE Multicentre 2013-2014 Case-Control Study. Homogeneous moderate influenza vaccine effectiveness against A(H1N1)pdm09 and heterogeneous results by country against A(H3N2). *Vaccine* 2015; Jun 4;33(24):2813-22. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.04.012. Epub 2015 Apr 28
116. Mereckiene J, Cotter S, Weber JT, et al. the VENICE project gatekeepers group. Influenza A(H1N1)pdm09 vaccination policies and coverage in Europe. *Eurosurveillance* 2012; 17: pii=20064.
117. Gilca V, De Serres G, Hamelin ME, et al. Antibody persistence and response to 2010–2011 trivalent influenza vaccine one year after a single dose of 2009 AS03-*adjuvanted* pandemic H1N1 vaccine in children. *Vaccine* 2011; 30: 35–41.
118. Puig-Barbera J. 2010-2011 influenza seasonal vaccine, preliminary mid-season effectiveness estimates: reason for concern, confounding or are we following the right track?. *Eurosurveillance* 2011; 16: pii=19821.

119. Kissling E, Valenciano M, I-MOVE case-control studies team. Early estimates of seasonal influenza vaccine effectiveness in Europe, 2010/11: I-MOVE, a multicentre case-control study. *Eurosurveillance* 2011; 16: pii=19818.
120. Savulescu C, Jiménez-Jorge S, de Mateo S, et al. Effectiveness of the 2010/11 seasonal trivalent influenza vaccine in Spain: preliminary results of a case-control study. *Eurosurveillance* 2011; 16: pii=19820.
121. Fry AM, Kim IK, Reed C, et al. Modeling the effect of different vaccine effectiveness estimates on the number of vaccine-prevented influenza-associated hospitalizations in older adults. *Clin Infect Dis* 2014; 59:406-9.

11. BIOGRAFIJA

Rođena sam 4. veljače 1971. godine u Zagrebu, udata, majka jednog djeteta. Diplomirala sam na Medicinskom fakultetu u Zagrebu 1995. Od 1996. do 1998. stažirala sam u Specijalnoj bolnici za medicinsku rehabilitaciju „Stubičke Toplice“. 1998. položila sam državni ispit iz medicine i počela s radom u farmaceutskoj industriji usavršavajući se prvenstveno za rad na međunarodnim multicentričnim kliničkim ispitivanjima i projektima. Izgrađujem medicinski odjel u Hrvatskoj, vodim medicinski odjel na razini regije, upravljam ljudskim i financijskim resursima.

2007. započela sam sa specijalizacijom iz epidemiologije na HZJZ i po povratku u medicinsku struku završila sam poslijediplomski studij Biomedicine na PMF-u u Zagrebu. 2010. sam magistrirala na temu: „Djelotvornost cjepiva protiv parotitisa, soj L-Zagreb, u uvjetima niske cirkulacije prirodnog soja virusa mumpsa u populaciji“, a iste godine položila sam i specijalistički ispit iz epidemiologije. 2011. godine upisala sam doktorski studij na Medicinskom fakultetu u Zagrebu te sam u rujnu 2012. godine branila temu disertacije.

Danas vodim Odjel za praćenje zaraznih bolesti u Službi za epidemiologiju HZJZ. Član sam Hrvatskog epidemiološkog društva i član Savjetodavnog odbora Europskog centra za sprečavanje i suzbijanje bolesti u Stockholmu. Sudjelujem u nekoliko multisektorskih povjerenstava i radnih skupina te sam nacionalna kontaktna točka za određena područja u nadzoru zaraznih bolesti za ECDC i SZO.

Radovi

Kurečić Filipović S, Gjenero-Margan I, Kissling E, Kaić B, Cvitković A. Influenza vaccine effectiveness estimates in Croatia in 2010–2011: a season with predominant circulation of A(H1N1)pdm09 influenza virus. *Epidemiol Infect.* 2015;143(12):2596-603

Višekruna Vučina V, Kurečić Filipović S, Kožnjak N, Stamenić V, Clark AD, Mounaude B, Blaue J, Hoestlandte C, Kaić B. Cost-effectiveness of pneumococcal conjugate vaccination in Croatia. *Vaccine* 2015; 33Suppl1:A209–A18

Vilibic-Cavlek T, Kaic B, Barbic L, Pem-Novosel I, Slavic-Vrzic V, Lesnikar V, Kurecic-Filipovic S, Babic-Erceg, A, Listes E, Stevanovic V, Gjenero-Margan I, Savini G. First evidence of simultaneous occurrence of West Nile virus and Usutu virus neuroinvasive disease in humans in Croatia during the 2013 outbreak. *Infection* 2014; 42:689-695

Gershman MD, Staples JE, Bentsi-Enchill AD i sur. Viscerotropic disease: Case definition and guidelines for collection, analysis, and presentation of immunization safety data. *Vaccine* 2012;30(33):5038-58

Gjenero-Margan I, Aleraj B, Krajcar D, Lesnikar V, Klobučar A, Pem-Novosel I, Kurečić-Filipović S, Komparak S, Martić R, Đuričić S, Betica-Radić L, Okmadžić J, Vilibić-Čavlek T, Babić-Erceg A, Turković B, Avšić-Županc T, Radić I, Ljubić M, Šarac K, Benić N, Mlinarić-Galinović G. Autochthonous dengue fever in Croatia, August–September 2010. *Euro Surveill.* 2011;16(9):pii=19805.

Dostupno na: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19805>

Kaic B, Gjenero-Margan I, Kurecic-Filipovic S, Muscat M. A measles outbreak in Croatia, 2008. *Euro Surveill.* 2009;14(1):pii=19083.

Dostupno na: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19083>

Kaic B, Vilibic-Cavlek T, Kurecic Filipovic S, Nemeth-Blažic T, Pem-Novosel I, Višekruna Vucina V, Šimunovic A, Zajec M, Radic I, Pavlic J, Glamocanin M, Gjenero-Margan M. Epidemiology of Viral Hepatitis. *Acta Med Croatica* 2013; 67:273-279

Kurečić Filipović S, Gjenero Margan I, Kaić B, Kolarić B, Pem Novosel I, Višekruna Vučina V. Djelotvornost cjepiva protiv parotitisa, soj L-Zagreb, u uvjetima niske cirkulacije prirodnog soja virusa mumpsa u populaciji. U: Miškulin M, Kolarić B, ur. Knjiga sažetaka 3. Hrvatskog epidemiološkog kongresa. Šibenik: Hrvatsko epidemiološko društvo; 2015, str. 104

Kurečić Filipović S, Erceg M, Kaić B, Pem Novosel I, Šimunović A, Višekruna Vučina V. Međunarodna suradnja na području nadzora i kontrole zaraznih bolesti. *Hrvatski časopis za javno zdravstvo*, 2013 Oct;9:27-32

Kurečić Filipović S, Pem Novosel I, Gjenero Margan I, Kaić B, Erceg M, Šupe Parun A: Epidemiologija Lyme borelioze u Hrvatskoj 1993.-2012. godine / *Epidemiology of Lyme borreliosis in Croatia, 1993 – 2012, CROCMID2013, Rovinj 24.-27. listopada 2013*

Pem Novosel I, Kurečić Filipović S, Gjenero Margan I, Kaić B, Erceg M, Višekruna Vučina V: Epidemiologija krpeljnog meningoencefalitisa u Hrvatskoj, 1993.- 2012. godine / *Epidemiology of tick-borne encephalitis in Croatia, 1993 – 2012, CROCMID2013, Rovinj 24.-27. listopada 2013*

Jelavić M, Kaić B, Kurečić Filipović S, Pem Novosel I, Višekruna Vučina V, Antoljak N, Šupe Parun A. Nacionalni programi prevencije zaraznih i nezaraznih bolesti. Hrvatski časopis za javno zdravstvo 2013 Oct;9:15-26

ANKETNI UPITNIK

Kontaktiramo Vas jer ste ove zime imali respiratornu bolest sa simptomima sličnim gripi te Vam je liječnik uzeo respiratorni uzorak radi utvrđivanja virusa gripe (influenca). Naša ustanova, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, provodi istraživanje s ciljem boljeg razumijevanja prijenosa gripe i utjecaja cijepljenja protiv gripe na samu pojavu bolesti. Cilj ispitivanja je procijeniti djelotvornost sezonskog cjepiva protiv influenza u sprečavanju sezonske gripe u sezoni 2010/2011.

Molimo Vas da odgovorite na nekoliko pitanja u ovom telefonskom razgovoru.

Odgovaranjem na postavljena pitanja suglasni ste sudjelovati u ovom ispitivanju. Vaši odgovori doprinijet će značajno prikupljanju novih saznanja o gripi i cijepljenju protiv gripe. Osobni podaci neće se koristiti i imate pravo u svakom trenutku odustati od sudjelovanja u ovom ispitivanju.

1. Jeste li cijepljeni protiv sezonske gripe u ovoj sezoni gripe (krajem 2010. ili početkom 2011. godine) ?
 - a) DA
 - b) NE
 - c) NE ZNAM

2. Gdje ste se cijepili protiv sezonske gripe ove sezone, znači ili krajem 2010. godine ili početkom ove godine ?
 - a) u ordinaciji svog liječnika primarne zdravstvene zaštite, kojoj _____ (zapisati ime LOM)
 - b) u Zavodu za javno zdravstvo, kojem _____ (zapisati točno naziv Zavoda)
 - c) u ustanovi gdje radim, kojoj _____

3. Koliko je vremena proteklo od trenutka kad ste se cijepili protiv gripe do trenutka kad su se pojavili respiratorni simptomi ili simptomi slični gripi zbog kojih ste se javili liječniku?
- a) manje od 7 dana
 - b) 7 dana i više, ali manje od 14 dana
 - c) 14 dana i više, ali manje od mjesec dana
 - d) mjesec ili više dana
 - e) ne sjećam se
4. Koliko je vremena proteklo od pojave simptoma sličnih gripi do trenutka kad Vam je uzet uzorak za analizu?
- a) manje od 3 dana
 - b) 3 dana ili više, ali manje od tjedan dana
 - c) tjedan dana ili više
 - d) ne znam točno
5. Da li ste zbog bolesti slične gripi i zbog koje Vam je uzet uzorak ove sezone primljeni u bolnicu?
- a) DA
 - b) NE
6. Jeste li se cijepili prošle sezone (2009/2010) protiv gripe?
- a) DA
 - b) NE
 - c) NE SJEĆAM SE

7. Da li ste se prošle godine (u sezoni gripe 2009/2010) cijepili samo sezonskim cjepivom protiv gripe, samo pandemijskim cjepivom, tzv. cjepivom protiv svinjske gripe ili ste primili oba cjepiva?
- a) primio/la sam **oba** cjepiva - sezonsko cjepivo protiv gripe i pandemijsko cjepivo, tzv. cjepivo protiv svinjske gripe
 - b) primio/la sam **samo** sezonsko cjepivo protiv gripe
 - c) primio/la sam **samo** pandemijsko cjepivo, tzv. cjepivo protiv svinjske gripe
 - d) prošle zime nisam primio/primila niti sezonsko niti pandemijsko cjepivo protiv gripe
 - e) ne sjećam se točno
8. Bolujete li od jedne ili više kroničnih bolesti ?
- a) kronične respiratorne bolesti (uključujući astmu)
 - b) kronične kardiovaskularne bolesti
 - c) kronične metaboličke bolesti (uključujući dijabetes)
 - d) kronične bubrežne bolesti
 - e) kronične jetrene bolesti
 - f) imunodeficijencije (kongenitalne ili stečene)
 - g) kronične neurološke ili neuromuskularne bolesti
9. Jeste li u trenutku cijepjenja bili trudni? (samo za ispitanice)
- a) DA
 - b) NE
10. Jeste li pušač?
- a) jesam

- b) nikad nisam pušio
- c) pušio sam ranije, no prestao sam pušiti prije više od godinu dana

11. Ako se već barem 2 godine redovito cijepite protiv gripe, možete li navesti razlog zašto se cijepite?

- a) imam kroničnu bolest koja me svrstava u rizičnu skupinu kojoj se preporuča cijepljenje
- b) imam više od 65 godina
- c) tako mi preporuča moj liječnik opće medicine
- d) prebolio sam jednom gripu, pa se bojim
- e) ne znam navesti točan razlog
- f) drugo _____