

OČKOVÁNÍ PROTI PERTUSI

MUDr. Pavel Kosina, MUDr. Jana Krausová

Klinika infekčních nemocí, FN a LF UK, Hradec Králové

Onemocnění pertusí je známo již ze středověku a před érou očkování patřilo k nejčastějším příčinám úmrtí v dětském věku. V 50. letech zahájené očkování celobuněčnou pertusovou vakcínou vedlo k rychlému poklesu počtu onemocnění nejen v České republice, ale i v ostatních zemích. K úplnému vymizení choroby však nedošlo, neboť ani očkovací látka, ani vlastní onemocnění nezanechává trvalou imunitu. Osmadesátá léta přinesla opětovný nárůst počtu případů především v USA a západoevropských zemích jako důsledek poklesu proočkovanosti dětské populace. Hlavní příčinou poklesu byla četnost nežádoucích reakcí po celobuněčné vakcíně (wP), proto se další vývoj vakcíny zaměřil na výrobu méně reaktogenní acelulární vakcíny (aP). Zlepšením vlastností očkovací látky byla vytvořena vakcína, kterou lze očkovat za určitých okolností i děti, které byly do té doby považovány za kontraindikované. V ČR jsou v pravidelném očkování aktuálně 2 očkovací schémata s celulární (TETRAct-HIB) a acelulární (Infanrix Hexa) vakcínou. Pokles imunity proti pertusi je u obou vakcín srovnatelný a adolescenti a dospělí jsou znovu vnímaví vůči infekci. Proto se také objevily vakcíny s redukováným množstvím antigenů určených k booster dávám u adolescentů a dospělých osob – Adacel a Boostrix, které by se v budoucnu podle současných poznatků mohly stát součástí očkovacích doporučení pro státy s cílem zvýšit imunitu ve skupině dospívajících a dospělých.

Klíčová slova: pertuse, celobuněčná pertusová vakcína, nežádoucí reakce, acelulární vakcína, pokles imunity, booster, adolescenti.

PERTUSSIS VACCINATION

Pertussis has been well-known disease since the middle ages and it was rated among the most frequent causes of deaths in pre-vaccination period. Introduction of vaccination in 50th was connected with the rapid decline of cases in the Czech Republic either as in other countries. Despite of vaccination coverage the illness had not been eradicated because of absence of long-lasting immunity both after vaccination and nature infection. The increasing number of cases in U. S. and Western European countries had been recorded in early 80th as a result of decreasing vaccination level in children. The main reason – high frequency of adverse effects associated with whole-cell pertussis vaccine (wP) promoted the development of less reactogenic acellular pertussis vaccine (aP). The aP vaccine has an improved safety profiles in children and allowed to vaccinate some of children until then contraindicated. Nowadays two parallel vaccination schedules with whole-cell (TETRAct-HIB) and acellular (Infanrix Hexa) vaccines have been routinely used in the Czech Republic. The wane of immunity is comparable in wP and aP vaccines and adolescents and adults become susceptible for pertussis. To this very day, vaccines with reduced amount of pertussis antigens were introduced (Adacel, Boostrix). They are expected to be incorporated in national vaccination programmes in order to improve the immunity against pertussis in adolescents and adults.

Key words: pertussis, whole-cell pertussis vaccine, adverse effects, acellular vaccine, wane of immunity, booster, adolescents.

Pediatr. pro Praxi, 2007; 2: 96–99

Pertuse (černý kašel, dávivý kašel, whooping cough) je onemocnění dýchacího traktu vyvolané gramnegativním, nepohyblivým kokobacilem *Bordetella pertussis*. Onemocnění se vyskytuje pouze u člověka a epidemie postihující především kojence a batolata jsou známy již od 16. století, etiologické agens bylo ale odhaleno až v roce 1900 belgickým mikrobiologem Bordetem. Podle objevitele je pojmenovaná dodnes používaná kultivační půda (1). Pro patogenезi pertuse jsou nejvýznamnější filamentózní hemagglutinin (FHA), který usnadňuje adhezi bakterií k řasinkovému epitelu, a pertusový toxin (PT), jenž je hlavním faktorem virulence. PT stejně jako FHA indukuje imunitní odpověď. Další faktory – pertaktin a tracheální cytotoxin jsou méně významné. Epidemie pertuse se objevují v 3–5letých intervalech a zdrojem onemocnění jsou v dnešní době nejčastěji dospělí jedinci se subklinicky probíhající nákazou. Onemocnění je charakterizováno dráždivým, v záchvatech se opakujícím kašlem se zarudnutím a promodráním v obličeji, často s „kokrhavým“ nádechem. Některé ataky kašle jsou zakončeny apnoickou pauzou nebo zvracením (10). Nejzávažnější průběhy jsou zaznamenávány u dětí

mladších 2 měsíců. Klasicky popisovaný průběh s katarálním a konvulzivním stadiem se vyskytuje u neočkovaných osob a při neléčeném onemocnění trvá až 6 týdnů.

Diagnostika pertuse je založena na přítomnosti klinických známek onemocnění, kultivačním vyšetření, lymfocytóze v diferenciálním krevním rozpočtu a na sérologickém potvrzení akutní infekce. Nejprůnosnějším se jeví vyšetření IgG, IgM a IgA protilátek metodou ELISA, dále se užívají aglutinační metody detekující protilátky proti FHA, případně komplementfixační reakce (KFR). Dostupný je na některých pracovištích i přímý průkaz DNA bakterie polymerázovou řetězovou reakcí PCR (1). V terapii se uplatňují makrolidová antibiotika, nejlépe podaná již v katarálním stadiu onemocnění. Při pozdějším zahájení terapie antibiotika vedou pouze k eliminaci bakterií. Doba léčby je minimálně 14 dnů. Prospěch kortikosteroidů, případně hyperimunního globulinu nebyl jednoznačně potvrzen (2).

Před zahájením očkování patřila pertuse k nejčastějším příčinám úmrtí v dětském věku. Přestože první pokusy o imunizaci spadají již do doby 1. světové války, k plošnému očkování došlo až

o více než 30 let později (3). Jednalo se o celobuněčnou inaktivovanou pertusovou vakcínu, která byla záhy kombinována s tetanickým a difterickým toxoidem.

V České republice bylo očkování proti pertusi zařazeno do očkovacího kalendáře v roce 1958 – vakcínou, která obsahovala kromě očkovací látky proti dávivému kašli i tetanickou a difterickou složku. Do roku 1958 bylo každoročně hlášeno u dětí více než 80 úmrtí za rok a počet případů převyšoval 30 000. V důsledku povinného očkování nastal rychlý pokles počtu nakažených, navíc po zavedení celoplošného očkování nedošlo k žádnému úmrtí (20).

V celosvětovém měřítku nadále dosahují počty onemocnění několika desítek milionů případů ročně s významnou mortalitou a trvalými následky. Přestože je dětská populace v České republice s výjimkou některých skupin dětí řádně proočkovaná, k eliminaci onemocnění na našem území nedošlo. Naopak – od 90. let minulého století počet případů neustále stoupá a ročně je hlášeno do systému EPIDAT cca 300 případů (19), množství subklinicky probíhajících nálezů je jistě mnohonásobně vyšší. Hlavní příčina vyplývá z časově omezené účinnosti očkování při

současné platném očkovacím schématu. Nejvíce případů je hlášeno u kojenců a dále u dětí, u nichž uplynulo od vakcinace více než 10 let. V prvním případě se jedná o děti, u kterých nebyla ještě zahájena vakcinace proti pertusi a u nichž ve většině případů je hladina transplacentárně přenesených protilátek od matky nedostatečná, nebo dokonce nulová. Druhá, nejvíce zastoupená skupina dětí je postižena v důsledku ztráty protektivního titru protilátek, který od poslední booster dávky v 5 letech klesá postupně na minimum. Ani prodělané onemocnění však nezanechává trvalou imunitu (11).

Mnohem dramatictější nárůst počtu případů onemocnění postihl v 80. letech některé západoevropské země, USA, Japonsko, Švédsko po vzplanutí protiočkovacích kampaní zaměřených na celobuněčnou pertusovou vakcínu a její souvislost s náhlým úmrtím kojenců, s vysokým výskytem nežádoucích účinků, ovlivněním neurologického vývoje u dětí atd. (6). Incidence onemocnění se v důsledku poklesu proočkovanosti zvýšila i více než 100krát. Tato nežádoucí situace zvýšila snahu připravit méně reaktogenní, acelulární vakcínu. Od počátku 80. let se objevily vakcíny obsahující definovaná množství inaktivovaného PT, pertaktinu a FHA (3). Vysoký výskyt onemocnění ve státech s poklesem proočkovanosti a zaznamenaná úmrtí společně s dostupností acelulární vakcíny vedla k určité „renesanci“ vakcinace proti pertusi s následným zpomalením nárůstu počtu onemocnění.

Historicky starší celobuněčná vakcína proti pertusi je vyráběna z pertusového bakterínu, tj. obsahuje všechny složky původní bakterie. V České republice je stále užívána kombinovaná očkovací látka proti černému kašli, záškrtu, tetanu a hemofilovým infekcím typu B – TETRAct-HIB. Vakcína je připravená z detoxikovaného a purifikovaného difterického a tetanického toxinu a z teplem inaktivované *Bordetella pertussis* (celý mikrob) a z purifikovaného kapsulárního polysacharidu *Haemophilus influenzae* typ b, který je konjugovaný na tetanový protein. Vakcína tedy obsahuje tekutou složku D. T. P. a lyofilizovanou složku Act-HIB. Je určena k aktivní imunizaci dětí od stáří 2 měsíců a nechrání před onemocněním jinými typy *Haemophilus influenzae*. Základní očkování proti záškrtu, tetanu, dávivému kašli a proti onemocněním, která vyvolává *Haemophilus influenzae* typ b, se provádějí u dětí v době započatého devátého týdne života třemi dávkami očkovací látky v měsíčních intervalech, čtvrtá dávka se podává v osmáctém až dvacátém měsíci života. TETRAct-HIB může být aplikován buď samostatně, nebo současně s jinými inaktivovanými či živými vakcínami, ale do jiného místa vpichu. Imunogenicitu resp. séropozitivitu po třech dávkách se pohybuje u pertuse mezi 75,5%–98,7% a po čtvrté dávce stoupá na 100%. Výrobce udává, že 96% dětí si po čtvrté dávce udržuje protilátky proti pertusi po dobu 7 let. Vakcína TETRAct-HIB je dosud součástí pravidelného očkování v České republice pro děti narozené před 1. 1. 2007 a nemající kontraindikace podání celobuněčné pertusové složky.

Hlavní důvod vedoucí k vývoji acelulární vakcíny je především poměrně vysoká reaktogennost celobuněčných pertusových vakcín. Mezi nejčastější reakce patří horečka a iritace centrálního nervového systému – apatie nebo dráždivý pláč, vzácně hypotonicko-hyporesponzivní syndrom (HHS) a encefalopatie. V naprosté většině případů se jedná o přechodnou reakci bez rozvoje trvalého neurologického postižení, nicméně další očkování tímto typem vakcíny není vhodné (14). Frekvence dráždivého pláče zjišťovaná v ČR se udává 1/100 dávek, rozvoj HHS 1/1 750 dávek, rozvoj encefalopatie 1/110 000 dávek. Celobuněčná pertusová vakcína je kromě obecných kontraindikací dále kontraindikována pro děti po prodělaných febrilních křečích, pro děti s DMO, záchvatovými a progredujícími neurologickými, metabolickými nebo autoimunitními onemocněními (14).

U acelulární vakcíny (aP) se kombinují subjednotkové antigeny získané z původní bakterie, kterých je celkem 5 (ne vždy se všechny ve vakcíně

používají): pertusový toxoid (anatoxin), filamentózní hemagglutinin, pertaktin a dva typy fimbrií.

V ČR je do pravidelného očkovacího kalendáře pro děti narozené po 1. 1. 2007 zařazena kombinovaná hexavalentní očkovací látka obsahující acelulární pertusovou složku – Infanrix Hexa. U této vakcíny se tetanický a difterický toxoid získávají působením formaldehydu na purifikované toxiny *Corynebacterium diphtheriae* a *Clostridium tetani*. Acelulární pertusové složky vakcíny se připravují z fáze I kultur *Bordetella pertussis* extrakcí, purifikací a následnou ireverzibilní detoxikací pertusového toxinu a působením formaldehydu na filamentový haemagglutinin a pertaktin. Povrchový antigen HBV je produkován kulturami geneticky modifikovaných kvasinkových buněk (*Saccharomyces cerevisiae*), do kterých byl zaveden gen s kódem hlavního povrchového antigenu HBV. Difterický toxoid, tetanický toxoid, složky acelulární pertuse a hepatitidy B jsou absorbovány na aluminiové soli. Tři kmeny polioviru jsou kultivovány na kontinuální buněčné kultuře VERO, purifikovány a inaktivovány formaldehydem. Hib polysacharid je připravený z *Haemophilus influenzae* typu b a je vázán na tetanický toxoid. Základní očkování se provádí v době od započatého třináctého týdne po narození dítěte, vždy však až po zhojení postvakcinační reakce po očkování proti tuberkulóze, a to třemi dávkami v průběhu prvního roku života dítěte, podanými v intervalech nejméně jednoho měsíce mezi dávkami, a čtvrtou dávkou podanou nejméně 6 měsíců po podání třetí dávky. Čtvrtá dávka hexavalentní očkovací látky se podává nejpozději před dovršením osmnáctého měsíce věku dítěte (15).

Jeden měsíc po ukončení základního očkování 3 dávkami vakcíny je udávána imunitní odpověď na jednotlivé pertusové antigeny mezi 97,2–99,3% (pertusový toxoid), 95,2–100% (filamentový haemagglutinin) a 95,9–99,3% (pertaktin). Po aplikaci 4. dávky vakcíny Infanrix Hexa během druhého roku života se odpověď na jednotlivé pertusové antigeny po podání posilovací dávky pohybuje dle údajů výrobce nejméně na 97,2%, 94,1% a 100%.

U pertuse neexistuje jednoznačná korelace mezi hladinami protilátek a ochranou proti onemocnění, a proto protektivní meze pro imunizaci proti dávivému kašli nebyly v minulosti striktně definovány a účinnost pertusové složky jednotlivých vakcín byla založena na klinických studiích (14). Teprve s příchodem acelulární vakcíny byly definovány hladiny specifických protilátek vůči charakteristickým antigenům acelulární vakcíny. Jako minimální protektivní hladiny pro jednotlivé vakcinační antigeny byly 4 EU/ml (pro hladinu protilátek specifických vůči pertusovému anatoxinu, stanovené metodou ELISA), 5 EU/ml (pro hladinu protilátek specifických vůči filamentóznímu hemagglutininu, stanovené metodou ELISA), 5 EU/ml

(pro hladinu protilátek specifických vůči pertaktinu, stanovené metodou ELISA). Sérokonverze je definována 4násobným vzrůstem hladin protilátek vzhledem k hladinám před imunizací a jsou minimálně 4x vyšší, než je hladina protilátek minimální detekce (MLD – Minimum Level of Detection), nebo mírnější definicí, kdy stačí detekovat po očkování hladiny protilátek, které jsou minimálně 4násobně vyšší než je MLD. Mimo to se stanovují neutralizační titry protilátek a aglutinační titry (5, 20).

Obecně není jednoznačná shoda, zda účinnost pertusové složky jednotlivých vakcín s acelulární i celulární složkou je identická. Některé studie ukazují – na podkladě hodnocení buněčné imunity – na lepší přetrvávání dlouhodobé imunity u acelulárních vakcín, jiné zdůrazňují naopak kratší dobu jejich účinnosti (4, 7).

Z pohledu reaktogenity je u acelulárních vakcín zřetelně nižší výskyt horečnatých reakcí – vzestup teploty nad 38 st. postihuje 4x méně dětí než po celobuněčných vakcínách, i pokles lokálních reakcí, významné je ale především výjimečně se vyskytující reakce charakteru HHS, křečí nebo encefalopatie (7).

Z tohoto pohledu lze v dnešní době očkovat proti pertusi i děti, které dříve byly z očkování úplně vyřazeny: děti pro prodělaných febrilních křečích v intervalu delším než 3 měsíce, děti se středním vývojovým rizikem rozvoje DMO, děti těžce nedošené nebo s orgánově specifickými autoimunními onemocněními (neutropenie, hemolytická anemie, diabetes I. typu, thyreoiditis, ulcerózní kolitida), děti po prodělaných vaskulitidách (Kawasaki a Sch – Henoch). Očkovací látku s acelulární pertusovou složkou je možné použít i u dětí s reaktivací kalmetizační jizvy nebo po prodělané velké reakci po celobuněčné pertusové vakcíně (14).

Dle současně platné vyhlášky se po proběhlé základní vakcinaci provede přeočkování proti dávivému kašli v pátém roce života v kombinované očkovací látce proti záškrtu a tetanu (vakcína Infanrix).

Studie v různých zemích ukazují, že účinnost očkování u obou typů vakcín klesá při čtyřdávkovém schématu základního očkování po 6–12 letech a stoupá riziko této nákazy u původně očkováných (9, 11, 18). Ve Spojených státech tvoří adolescenti mezi 11–18 lety 34% všech hlášených onemocnění, a to je jen menšina z celkového počtu předpokládaných případů. Přestože většina onemocnění v tomto věkovém období má mírnější průběh, z epidemiologického hlediska se jedná o závažný problém především s ohledem na přenos nákazy na dosud neočkované kojence, a tím zvýšení počtu onemocnění v této věkové skupině.

Ještě do nedávné doby byla horní hranice pro aplikaci pertusových vakcín 6 let resp. dovršení 7. roku života (14). V současné době jsou vyvíjeny a v ně-

kterých zemích již registrovány acelulární vakcíny s redukováným množstvím jednotlivých antigenních komponent. Důvodem je bezpečnost očkování, neboť dětské koncentrace nejsou dobře tolerovány dospělými: pertusový toxoid (anatoxin) je redukován na 2,5–8 µg, filamentózní hemagglutinin na 5–8 µg, pertaktin na 2,5–3 µg, event. fimbrie na 5 µg.

Ve Spojených státech, ale i v některých evropských státech je k dispozici očkovací látka Boostrix. Vakcína je doporučena pro děti od 10 do 18 let. Spolu s pertusí by měla děti ochránit i před tetanem a difterií, vzniklá imunita by měla přetrvávat po dobu nejméně pěti let. Další v některých státech registrovanou vakcínou je očkovací látka Adacel určená pro osoby mezi 11.–64. rokem věku. Od června 2005 je poradním sborem pro očkování (ACIP) oficiálně doporučeno nahradit očkování proti difterii a tetanu vakcínou obsahující i pertusovou komponentu (Tdap) s podáním nejlépe mezi 11.–12. rokem věku a od října 2006 bylo obecné doporučení rozšířeno i na populaci ve věkovém rozmezí 19–64 let (18). Tento přístup byl podpořen několika studiemi poukazujícími hlavně na tato fakta: podávání aP boosteru poskytuje dospívajícím i dospělým osobám protekci vůči symptomatickému dávivému kašli a pravděpodobně poskytuje ochranu vůči mírným a asymptomatickým nákazám a snižuje přenos nákazy na ostatní, zejména malé děti (16). U adolescentů a dospělých osob bylo potvrzeno, že vakcína Tdap je bezpečná i imunogenní a indukuje protilátky ve vyšší hladině, než je tomu v dětství (13, 17). Výhodná je také skutečnost, že je možné vakcinovat jednou dávkou také děti, které nebyly z nejrůznějších důvodů proti pertusi očkovány v kojeneckém věku. Imunitní odpověď je dostatečná – naopak – v případě nutné kompletní revakcinace proti difterii resp. tetanu je třeba očkování dokončit pouze těmito složkami bez další přítomnosti pertusové složky (12). V roce 2005 byla testována i vakcína obsahující navíc ještě neživou očkovací látku proti přenosné obrně s dobrou imunogenitou a snášenlivostí (8). V ČR dosud není žádná z uvedených vakcín registrována (stav k 3/2007), ale diskuze na téma zařazení boosterujících dávek nejen proti pertusi, ale i difterii probíhají. Očkování proti dávivému kašli má dlouhou historii a neustále se dynamicky vyvíjí. Vysoký stupeň proočkování dětské populace, optimální načasování booster dávek v kombinaci s přeočkováním proti difterii a tetanu v adolescenci a dospělém věku by v budoucnu mohly vést k lepší kontrole nad tímto mnohdy závažným onemocněním.

MUDr. Pavel Kosina

Klinika infekčních nemocí FN
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
e-mail: KosinaP@lfhk.cuni.cz

Literatura

1. Bartošová D. Dětské infekční nemoci. Galén 2003: 233–234.
2. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB: Nelson Textbook of Pediatrics. 16th Ed WB Saunders 2000, 195: 838–842.
3. Beran J, Havlík J, Vonka V. Očkování – minulost, přítomnost, budoucnost. Galén 2005: 41–44.
4. Cassone AM. Cell-mediated and antibody responses to Bordetella Pertussis antigens in children vaccinated with acellular or whole-cell pertussis vaccines. Arch Pediatr Adolesc Med. 1997; 151: 283–289.
5. Eskola J, Ward J, Dagan R, Goldblatt D, Zepp F, Siegrist CA. Combined vaccination of Haemophilus influenzae type b conjugate and diphtheria-tetanus-pertussis-containing acellular pertussis. Lancet 1999; 354: 2063–2068.
6. Farizo KM, Chochi SL, et al. Epidemiological features of pertussis in the U.S. Clin Infect Dis J, 1992, 14, 708.
7. Greco D, Salmaso S, Mastrantonio P, Giuliano M, Tozzi AE, Anemona A, Ciofi degli Atti ML, Giammanco A, Panei P, Blackwelder WC, Klein DL, Wassilak SG, A controlled trial of two acellular vaccines and one whole-cell vaccine against pertussis. N Engl J Med. 1996 Feb 8; 334 (6): 341–348.
8. Grimprel E, von Sonnenburg F, Sängler R, Abitbol V, Wolter JM, Schuerman LM Combined reduced-antigen-content diphtheria-tetanus-acellular pertussis and polio vaccine (dTpa-IPV) for booster vaccination of adults. Vaccine. 2005 May 25; 23 (28): 3657–3667.
9. Gustafsson L, Hallander HO, Olin P, Reizenstein E, Storsaeter J, A controlled trial of a two-component acellular, a five-component acellular, and a whole-cell pertussis vaccine, N Engl J Med. 1996 Feb 8; 334 (6): 349–355. Erratum in: N Engl J Med 1996 May 2; 334 (18): 1207.
10. Havlík J. et al. Infekční nemoci. Galén 2002: 55–56.
11. Holčíková A, Štroblová H, Jirsenská Z. Může být v diagnostice pertuse přínosné stanovení IgG protilátek k pertusovému toxinu? Klin mikrobiol inf lék 2006; 12 (5): 184–188.
12. Knuf M, Zepp F, Meyer C, Grzegowski E, Wolter J, Riffelmann M, Wirsing von König CH Immunogenicity of a single dose of reduced-antigen acellular pertussis vaccine in a non-vaccinated adolescent population. Vaccine. 2006 Mar 15; 24 (12): 2043–2048.
13. Pichichero ME, Blatter MM, Kennedy WA, Hedrick J, Descamps D, Friedland LR Acellular pertussis vaccine booster combined with diphtheria and tetanus toxoids for adolescents. Pediatrics. 2006 Apr; 117 (4): 1084–1093.
14. Škovránková J, Komárek V, Paděrová K. Indikace očkování proti tetanu, záškrtu a černému kašli vakcínou obsahující acelulární pertusovou složku. Neurol pro prax, 2003; 2: 90–91.
15. Vyhláška č. 537/2006 Sb. o očkování proti infekčním nemocem. § 4 – Pravidelné očkování proti záškrtu, tetanu, dávivému kašli, invazivnímu onemocnění vyvolanému původcem Haemophilus influenzae b, přenosné dětské obrně a virové hepatitidě B.
16. Ward JI, Cherry JD, Chang SJ, Partridge S, Keitel W, Edwards K, Lee M, Treanor J, Greenberg DP, Barenkamp S, Bernstein DI, Edelman R. Bordetella Pertussis infections in vaccinated and unvaccinated adolescents and adults, as assessed in a national prospective randomized Acellular Pertussis Vaccine Trial (APERT). Clin Infect Dis. 2006 Jul 15; 43 (2): 151–157.
17. Ward JI, Cherry JD, Chang SJ, Partridge S, Lee H, Treanor J, Greenberg DP, Keitel W, Barenkamp S, Bernstein DI, Edelman R, Edwards K. Efficacy of an acellular pertussis vaccine among adolescents and adults. N Engl J Med. 2005 Oct 13; 353 (15): 1555–1563.
18. www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr/rr55e223.pdf.
19. www.szu.cz/cem/epidat/.
20. www.vakciny.net/pravidelne_ockovani/DTP.