

# 2007–2014年越南北部乙型流感的传播

Le Thi Thanh<sup>a</sup>, Pham Thu Hang<sup>a</sup>, Pham Thi Hien<sup>a</sup>, Nguyen Le Khanh Hang<sup>a</sup>, Nguyen Co Thach<sup>a</sup>,  
Hoang Vu Mai Phuong<sup>a</sup>, Tran Thu Huong<sup>a</sup>, Nguyen Vu Son<sup>a</sup>, Ngo Huong Giang<sup>a</sup>和Le Quynh Mai<sup>a</sup>

通讯作者: Le Quynh Mai (电子邮箱: lom9@hotmail.com or lom9@nihe.org.vn)。

**背景:** 乙型流感病毒在越南全国均有传播, 而且不同地区的流行会有不同。在过去20年, 两种不同抗原的乙型流感病毒一直在共同传播, 然而当前的三价季节性流感疫苗的成分只选择其中一种。为提高对乙型流感病毒流行株与流感疫苗不匹配的了解, 我们报道了越南北部八年期间(2007–2014年)的乙型流感病毒系的流行情况。

**方法:** 应用标准参考雪貂抗血清(Yamagata)和羊抗血清(Victoria)进行血凝抑制实验, 对331株乙型流感病毒进行系间区分。选出64株乙型流感病毒进行血凝素基因序列分析。

**结果:** 乙型流感病毒系间的比例每年各不相同。2007年、2008年和2012年以Yamagata系为主; 2009–2014年则以Victoria系为主(2012年除外)。随着时间的推移, 两种系别均在不断进化。2007年、2009年和2014年期间, 北半球的流感疫苗成分与主要流行的病毒株不匹配。

**讨论:** 热带和亚热带地区乙型流感的季节性比温带地区变化更大。我们的数据显示越南北部乙型流感两种系别经常是共同传播, 因此很难预测哪种系别会占主导地位。将来包含两种系别的四价疫苗将会进一步提高流感疫苗的效果。

**温**带气候国家在每年的冬季和早春都要发生季节性流感流行<sup>[1]</sup>。最近, 四种具有不同抗原组分的流感病毒被认为是引起人类感染的原因, 包括甲型流感病毒两个亚型(A/H1N1和A/H3N2)和乙型流感病毒两个系。参考毒株B/Victoria/2/87和B/Yamagata/16/88是两种乙型流感系的代表毒株。1983年以来两种乙型流感系和甲型流感病毒共同传播<sup>[2]</sup>。两种乙型流感系所占的比例随着年份和国家的不同而发生变化, 然而目前季节性流感疫苗仅包含一种乙型流感毒株。由于两种乙型流感系没有交叉反应, 因此在两种乙型流感系同时传播的年份, 很难选择将哪种乙型流感系作为疫苗株<sup>[3]</sup>。此外, Victoria和Yamagata之间进化和流行病学动力学的不同也增加了选择的难度<sup>[4]</sup>。

在越南, 流感是门诊病人中流感样病例的一个重要原因<sup>[5]</sup>, 流感病毒全年都有流行, 而且有两个明显的高峰<sup>[6]</sup>, 但是在温带地区, 则只有一个冬季高峰。另外, 越南南部和北部的气候明显不同。越南北部是湿润、亚热带气候, 而南部地区是全年热带气候。两个地区流感传播模式截然不同<sup>[7]</sup>。在越南, 乙型流感病毒的传播模式和季节性甲型流感病毒不同步。甲型流感病毒的春季流行高峰通常在二月和三月。在北部地区, 乙型流感病毒高峰期在十一月至次年三月, 在南部地区则全年均有流行, 流行强度相似, 而中部地区在十一月至次年五月流行水平较高<sup>[6]</sup>。

2005年, 越南成立了以四个地区(北部, 南部, 高地和中部)哨点监测为基础的国家流感监测系统

(National Influenza Surveillance System [NISS])。国家流感中心(National Influenza Center [NIC])位于河内国家卫生学和流行病学研究所(NIHE), NIC负责开展越南北部的流感病毒学监测。监测数据可以提供越南流感流行的影响和季节性等信息, 并监测全国流行的流感病毒毒株<sup>[5,6]</sup>。

1987年以来, 两种乙型流感系在越南和亚太地区一直共同流行并引起季节性暴发<sup>[8]</sup>, 然而以实验室为基础的监测和病毒传播模式的深入分析工作在之前并未开展。本研究中, 我们报道了2007–2014年乙型流感系在越南的流行情况, 以提高对该病毒的了解。

## 方法

### 研究人群

研究对象为到越南北部七个监测哨点就诊的所有年龄段的流感样病例(ILI), 七个监测哨点包括2家河内的中心医院, 3家区级医院和2家门诊诊所<sup>[5]</sup>, ILI采用世界卫生组织(WHO)的标准定义: 体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ , 伴有咳嗽和/或喉痛; 此外, 研究对象要求必须是发病三天以内者<sup>[8]</sup>。

### 样本收集

受过培训的护士用棉拭子(Hanacomedical有限公司, 札幌, 日本)采集患者鼻咽拭子(Nasopharyngeal

<sup>a</sup> 国家卫生学和流行病学研究所, 河内, 越南。

投稿日期: 2015年4月20日; 发表日期: 2015年11月11日

doi: 10.5365/wpsar.2015.6.1.022

swabs, NPS) 或者咽拭子 (throat swabs, TS)。采集周一至周五每天前两名ILI病例的样本。然后将拭子置于病毒运输培养基, 保存在采样机构<sup>[3,8]</sup>。在周五或下一个周一将样本带冰运送至NIC进行病毒学检测<sup>[6]</sup>。

### 病毒培养和抗原特征

根据NISS试验流程, 选择RT-PCR检测为乙型流感病毒阳性的鼻咽拭子和咽拭子样本进行病毒分离。将分离的病毒保存在-80 °C。应用WHO检测试剂盒中的B/Victoria和B/Yamagata系的参考抗原和抗血清进行血凝抑制试验 (haemagglutination inhibition assay, HI), 对分离的乙型流感毒株进行分系鉴定。鉴定所用的雪貂或者羊的血清 (使用破坏受体酶 [Denka Seikan Co., Ltd., 东京, 日本] 预处理) 由参考毒株B/Victoria lineage (B/Brisbane/32/2002) 和B/Yamagata (B/Shanghai/361/2002) 免疫动物后制备。在96孔微量板上进行HI试验, 使用的是0.5%鸡红细胞。参考抗血清稀释倍数为1:10至1:1280。乙型流感病毒稀释至4个血凝 (haemagglutinin, HA) 单位 / 25 $\mu$ l, 并依据WHO指南进行试验<sup>[9]</sup>。通过与两种参考抗血清HI滴度的比较来鉴定乙型流感分离株的系别, 与Victoria系或Yamagata系参考抗血清有较高HI滴度的则被认为是同系病毒。

### 疫苗株比较

比较乙型流感毒株与WHO推荐的北半球和/或南半球疫苗成分, 以判断2007–2014期间每年的乙型流感系是否与疫苗成分匹配。当乙型流感毒株与同系疫苗株的HI滴度差异2倍以上时, 则提示二者之间的不匹配。

### 分子特征

挑选血凝单位8及以上的乙型流感分离株在NIC-NIHE通过测序进行HA基因分析。每个分离毒株分出140 $\mu$ l进行RNA提取, 使用RNA提取试剂盒 (Qiagen, Valencia, CA, USA) 按照使用说明书进行操作。按照以前所描述, 应用甲型流感病毒通用引物 (Uni 12) AGC AAA AGC AGG将RNA逆转录为cDNA<sup>[10]</sup>。使用特异性引物HA-25F: ATC CAC AAA ATG AAG GCA和HA1140R: ACC AGA ATA GCT CCGA扩增乙型流感HA基因片段。应用PCR纯化试剂盒 (Qiagen, Valencia, CA, USA) 将PCR产物纯化, 按照使用说明书使用Big Dye Terminator v3.1 cycle测序试剂盒 (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) 进行测序反应, 应用ABI 3100自动DNA测序仪进行序列的读取。

表1. 2007-2014年越南北部进行进化分析的乙型流感系分离毒株数量 ( $n = 64$ )

年份	进行血凝素基因分析的乙型流感毒株数量		
	Victoria系	Yamagata系	合计
2010	3	2	5
2011	14	8	22
2012	7	7	14
2013	4	4	8
2014	11	4	15
合计	39	25	64

序列的拼接使用Lasergene, version 8.0 (DNASTAR, Inc., Madison, WI, USA) 分析软件。使用CLUSTAL-X (Conway Institute University College Dublin, Dublin 4, Ireland) 软件进行多条序列比对, 以发现HA基因片段主要编码区域<sup>[11]</sup>。通过最大似然法 (maximum likelihood, ML) 方法, bootstrapping设为1000 replicates, 构建HA基因的系统发生树, 参与分析的乙型流感毒株 B/Brisbane/32/2002 (B/Victoria), B/Jiangsu/10/2003 (B/Yamagata) 等毒株的HA基因序列来自美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) <sup>[12]</sup>。应用最适核苷酸替代模型对ML树进行评估<sup>[13]</sup>。为确定氨基酸序列变异数量, 应用NCBI的分子进化基因分析5 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, MEGA) 中的基本位点比对搜索工具 (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST) 来发现与每个系最接近的代表株序列<sup>[11]</sup>。

本研究中报道的所有序列都提交到GenBank数据库中, 获得的编码是从KT359277至KT35934014。

### 伦理学审核

越南国家卫生学和流行病学研究所和美国乔治亚州亚特兰大疾病预防控制中心通过了本研究的伦理学审核。所有参与者均提供了书面的知情同意书。

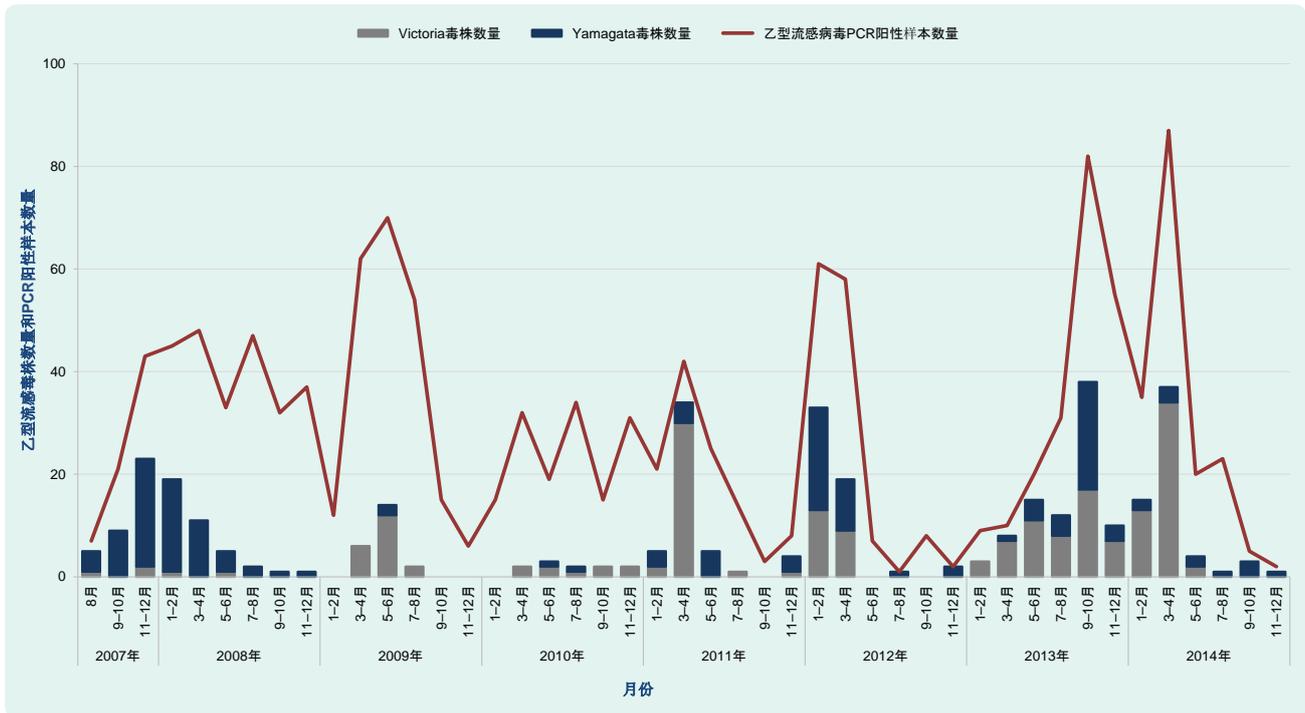
### 结果

从NISS共搜集331株乙型流感病毒, 我们选择64株HI滴度大于8个HA单位的毒株进行序列分析 (表1)。

### 流感流行模式

2007–2012年的NISS数据显示乙型流感全年都有流行, 主要流行高峰在三月至四月 (图1)。331株乙型流感病毒中, 我们发现195株为Victoria系, 136株

图1. 2007–2014年越南北部每两个月的乙型流感毒株数量和PCR阳性样本数量



PCR, 聚合酶链反应。

为Yamagata系。每一年中都能检测到这两个流感病毒系。Yamagata系在2007年, 2008年和2012年为主导地位。Victoria系在2009–2011年和2013–2014年为主导地位(表2)。

### 抗原分析

大部分参与检测的Victoria系毒株(190/195, 97.3%)与WHO推荐的疫苗株(B/Brisbane/60/2008)参考抗血清的HI滴度差异均小于两倍。同样, 几乎所有检测的Yamagata系毒株(124/136, 91.2%)与推荐的疫苗株(B/Florida/04/2006; B/Wisconsin/01/2010或者B/Massachusetts/2/2012)参考抗血清的反应都非常好。

### 进化分析

64株病毒毒株的HA基因进化分析结果显示, 39株病毒属于Victoria系, 25株病毒属于Yamagata系。基于HA1基因区域核苷酸序列的差异, 进化树展示了Victoria系和Yamagata系不同的遗传多样性。乙型流感病毒Victoria系进化树可以进一步分为两个分支(V1和V2), 分支V1包含所有2010年的分离株(3个分离株), 2011年的分离株(14个分离株)和几乎所有2012年的分离株(6/7分离株)。分支V1和澳大利亚、孟加拉国和泰国的分离株聚集成群。和推荐的疫苗株(B/Malaysia/2506/2004)相比, 他们都具有

S134P, N165K和A199T氨基酸的变化。总体来看, 来自2012年(1个分离株)、2013年(4个分离株)和2014年(11个分离株)的16个分离株组成分支V2。他们与澳大利亚毒株、泰国毒株、美国毒株及参考毒株B/Brisbane/32/2002高度同源(图2)。

Yamagata系分为3个分支, 分别为Y1、Y2和Y3。分支Y1中不包含本次研究中涉及到的25株乙型流感病毒Yamagata系分离株。分支Y2由2010–2012年的17个分离株、2014年的2个分离株和一些来自中国、美国和日本的毒株组成。分支Y2与推荐的疫苗株B/Florida/4/2006 strain密切相关。分支Y2和参考毒株B/Jiangsu/10/2003最常见的氨基酸差异是在R48K、P108A、I150S、I166N、T182A、S203N和D230G位置。分支Y3包含2013年的4个分离株, 2014年的两个分离株以及在中国、泰国和美国流行的病毒株。2009–2012年, 这个分支与B/Jiangsu/10/2003毒株比较, 在N116K、K299E和E313K位置存在氨基酸差异(图2)。

### 流行和疫苗株

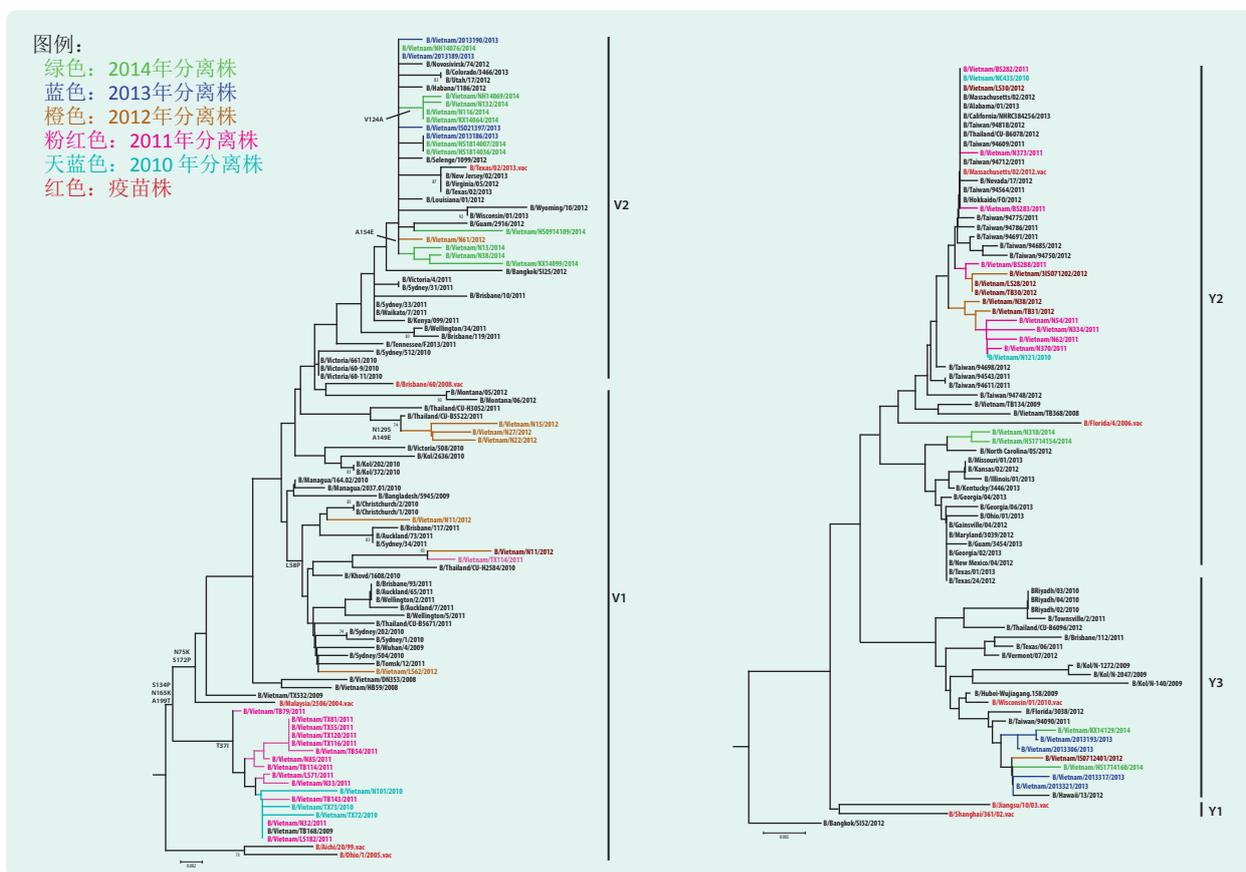
2007–2014年期间, 除2009年和2012年以外, 其他年份中(6/8, 75.0%)对北半球和南半球都被推荐了相同的乙型流感疫苗候选株。北半球的疫苗成分在2009年从B/Malaysia/2506/2004更新为B/Brisbane/60/2008(Victoria系)。

表2. 2007–2014年越南北部乙型流感疫苗成分和乙型流感系的分布

流感季节	北半球		南半球		本研究中越南的毒株数量	
	疫苗候选株	流感季节	疫苗候选株	年份	Victoria系 (n = 195)	Yamagata系 (n = 136)
2007–2008	B/Malaysia/2506/2004类似病毒	2007	B/Malaysia/2506/2004类似病毒	2007	2	24
2008–2009	B/Florida/04/2006类似病毒	2008	B/Florida/04/2006类似病毒	2008	2	29
2009–2010	B/ Brisbane/60/2008类似病毒	2009	B/ Brisbane/60/2008类似病毒	2009	21	3
2010–2011	B/Brisbane/60/2008类似病毒	2010	B/Brisbane/60/2008类似病毒	2010	12	1
2011–2012	B/Brisbane/60/2008类似病毒	2011	B/Brisbane/60/2008类似病毒	2011	37	4
2012–2013	B/Brisbane/60/2008类似病毒	2012	B/Brisbane/60/2008类似病毒	2012	21	31
2013–2014	B/Wisconsin/1/2010类似病毒	2013	B/Wisconsin/1/2010类似病毒	2013	50	32
2014–2015	B/Massachusetts/2/2012类似病毒	2014	B/Massachusetts/2/2012类似病毒	2014	50	12

注: B/Malaysia/2506/2004类似病毒和B/Brisbane/60/2008类似病毒属于B/Victoria/7/87系。B/Florida/04/2006类似病毒, B/Wisconsin/1/2010类似病毒和B/Massachusetts/2/2012类似病毒属于B/Yamagata/16/88系。

图2. 2010–2014年越南北部流行的乙型流感系血凝素基因的进化分析 (n = 64)



Yamagata系也在2012年从B/Florida/04/2006类似病毒更新为B/Wisconsin/1/2010，在2014年更新为B/Massachusetts/02/2012。

2007年WHO推荐的北半球的乙型流感疫苗成分是B/Yamagata lineage，2009年和2014年是B/Victoria lineage，我们发现越南流行的乙型流感病毒株与上述疫苗株可能不匹配（表2）。

此外，2008–2012年WHO推荐的疫苗株与当时流行的乙型流感病毒株只有一半匹配。例如2012年疫苗株为B/Yamagata lineage，而我们此次研究分类为Yamagata系的分离株仅占31/52（59.9%）（表2）。

## 讨论

两种乙型流感系每年以不同比例共同传播是很常见的，这种情况不仅出现在越南和中国香港特别行政区等亚热带国家和地区，也出现在美国和欧洲等温带国家<sup>[1,3,15,16]</sup>。本次研究首次报告了乙型流感系在越南的传播。

我们的数据显示乙型流感系的流行模式发生变化，这与澳大利亚、巴西、中国香港特别行政区和苏格兰的研究相似<sup>[17–20]</sup>。疫苗株与研究期间的流感病毒流行株不匹配，表明了在那些年中疫苗在越南北部可能没有效果。

本研究发现大部分病毒流行株的滴度和参考毒株无区别，表明这些病毒株和参考毒株以及疫苗候选株之间无抗原性的区别。没有证据表明研究期间的乙型流感病毒株发生了主要抗原漂移。因此，本研究中的乙型流感分离株的大部分抗原特性仍与疫苗候选株相同。

系统发生分析显示，Victoria系和Yamagata系与越南和邻近国家流行的流感病毒高度相似。HA基因遗传多样性表明每个系里至少有两个亚支，而且分离株HA抗原决定簇的氨基酸替换表明了抗原漂移在持续发生（图2）。

与甲型流感病毒不同，乙型流感病毒有多重进化系，它们在相当长的时间内可以共同存在<sup>[21]</sup>。这种情况在二十世纪八十年代早期就已经发生了，当时从B/USSR/100/83类似病毒进化成新的系（B/Yamanashi/16/88类似）。从那时起，这种新的病毒系就和已有的病毒系（B/Victoria/2/87样）共同存在和传播<sup>[2]</sup>。按照WHO全球流感监测和应对系统的数

据，乙型流感病毒两个系在不同国家均有同时存在和传播<sup>[3,22]</sup>，这为每年选择流感疫苗株中的乙型流感病毒株带来困难。

在越南，虽然乙型流感病毒比甲型流感病毒更少引起大范围流行，但是乙型流感病毒会和甲型流感病毒共同存在和传播，而且乙型流感病毒有时也会占主导地位。预防流感依然是越南公共卫生的一个主要任务，疫苗是预防流感的主要工具。三价疫苗已被全世界广泛使用，但是如果乙型流感疫苗成分与流行株不匹配将可能没有效果。最近，包含两种乙型流感病毒株的四价流感疫苗已经在加拿大、美国和几个欧洲国家使用<sup>[23]</sup>。研究发现四价疫苗的效果要高于三价疫苗<sup>[24]</sup>，尽管在越南的效果尚未明确。四价流感疫苗可能是将来促进流感疫苗项目的一个解决方案。同时，由于在即将来临的流感季乙型流感病毒毒株的变化还难以预测，因此建议持续开展全年流感监测，以监测疾病趋势，为制定流感疫苗政策提供信息，更好的预防和控制流感。

本研究有如下几个局限性。由于样本数较少，如果没有进一步分析可能很难判断乙型流感病毒流行的总体趋势。本研究中仅包括了越南北部的样本，因此根据这两种乙型流感系的流行模式可能不能代表整个越南。因此我们希望将来的研究中能包括不同地区、气候、社会条件及其他因素等变量。本研究中其他基因如神经氨酸酶（NA）基因和内部基因节段等信息尚缺乏。但是，另外一项研究结果显示，Victoria和Yamagata系中的NA和内部基因节段的进化和流行病学动力学与HA基因的这方面结果非常相似<sup>[4]</sup>。

我们的研究结果为越南北部季节性乙型流感病毒的病毒学特征提供了更多的信息，这可能会影响将来新的流感疫苗政策的产生。

## 利益矛盾

无。

## 基金

无。

## 致谢

我们感谢Juliet Bryant博士为这篇文章进行科学编辑。感谢国家卫生学和流行病学研究所对我们工作提供的持续支持。感谢WHO和美国疾病预防控制中心支持的NISS提供的研究数据。

## 引用本文地址:

Le TT et al. Circulation of influenza B lineages in the North of Viet Nam, 2007–2014. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 2015, 6(4):17–23. doi:10.5365/wpsar.2015.6.1.022

## 参考文献

- Daniels R, Gregory V, McCauley J. *Surveillance report: influenza virus characterization, summary Europe, December 2013*. Stockholm, European Reference Laboratory Network for Human Influenza, European Centre for Disease Prevention and Control, 2013 (<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/influenza-virus-characterisation-dec-2013.pdf>, accessed 7 September 2015).
- Biere B, Bauer B, Schweiger B. Differentiation of influenza B virus lineages Yamagata and Victoria by real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010, 48:1425–1427. doi:10.1128/JCM.02116-09 pmid:20107085
- World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2014–2015 Northern Hemisphere influenza season. *Weekly Epidemiological Record*, 2014, 89:93–104. pmid:24707514
- Vijaykrishna D et al. The contrasting phylodynamics of human influenza B viruses. *Elife*, 2015, 4:e05055. doi:10.7554/eLife.05055 pmid:25594904
- Nguyen HT et al.; Vietnam National Influenza Surveillance and Evaluation Team. National influenza surveillance in Vietnam, 2006–2007. *Vaccine*, 2009, 28:398–402. doi:10.1016/j.vaccine.2009.09.139 pmid:19853073
- Nguyen YT et al. National surveillance for influenza and influenza-like illness in Vietnam, 2006–2010. *Vaccine*, 2013, 31:4368–4374. doi:10.1016/j.vaccine.2013.07.018 pmid:23911781
- Saha S et al. Influenza seasonality and vaccination timing in tropical and subtropical areas of southern and south-eastern Asia. *Bulletin of the World Health Organization*, 2014, 92:318–330. doi:10.2471/BLT.13.124412 pmid:24839321
- Barr IG et al. *Circulation and antigenic drift in human influenza B viruses in SE Asia and Oceania since 2000*. Canberra, Department of Health, 2006 (<http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/content/cda-cdi3003h.htm>, accessed 7 September 2015).
- Webster R, Cox N, Stöhr K. *WHO manual on animal influenza diagnosis and surveillance, 2nd edition*. Geneva, World Health Organization, 2002 (<http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/en/whocdscsrncs20025rev.pdf?ua=1>, accessed 7 September 2015).
- Hoffmann E et al. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. *Archives of Virology*, 2001, 146:2275–2289. doi:10.1007/s007050170002 pmid:11811679
- Jeanmougin F et al. Multiple sequence alignment with Clustal X. *Trends in Biochemical Sciences*, 1998, 23(10):403–405.
- Bao Y et al. The influenza virus resource at the National Center for Biotechnology Information. *Journal of Virology*, 2008, 82:596–601. doi:10.1128/JVI.02005-07 pmid:17942553
- Yang Z. PAML 4: phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, 24:1586–1591. doi:10.1093/molbev/msm088 pmid:17483113
- GenBank (Locus: KT359277 - KT359340). Maryland, National Center for Biotechnology Information, US National Library of Medicine, 1999 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/sequenceids/>, accessed 30 September 2015).
- Daniels R, Gregory V, McCauley J. *Surveillance report: influenza virus characterization, summary Europe, December 2014*. Stockholm, European Reference Laboratory Network for Human Influenza, European Centre for Disease Prevention and Control, 2014 (<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/influenza-virus-characterisation-December-2014.pdf>, accessed 7 September 2015).
- Members of the Western Pacific Region Global Influenza Surveillance and Response System. Seasonal influenza vaccine policies, recommendations and use in the World Health Organization's Western Pacific Region. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 2013, 4(3):1–9. doi:10.5365/wpsar.2013.4.1.009 pmid:24319615
- Borborema SET et al. Molecular characterization of influenza B virus outbreak on a cruise ship in Brazil 2012. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 2014, 56:185–189. doi:10.1590/S0036-46652014000300001 pmid:24878994
- Flood L et al. Influenza B outbreak in a primary school in Adelaide, Australia, 2011. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 2012, 3(3):76–82. doi:10.5365/wpsar.2012.3.2.004 pmid:23908928
- Harvala H et al. Burden of influenza B virus infections in Scotland in 2012/13 and epidemiological investigations between 2000 and 2012. *Euro surveillance: European Communicable Diseases Bulletin*, 2014, 19(37):pii:20903. pmid:25259532
- Chan PKS et al. Influenza B lineage circulation and hospitalization rates in a subtropical city, Hong Kong, 2000–2010. *Clinical Infectious Diseases*, 2013, 56:677–684. doi:10.1093/cid/cis885 pmid:23074315
- Oshitani H. Influenza surveillance and control in the Western Pacific Region. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 2010, 1(1):3–4. doi:10.5365/wpsar.2010.1.1.005 pmid:23908873
- Members of the Western Pacific Region Global Influenza Surveillance and Response System. Epidemiological and virological characteristics of influenza in the Western Pacific Region of the World Health Organization, 2006–2010. *PLoS One*, 2012, 7(5):e37568. doi: pmid:22675427
- Influenza vaccination*. Stockholm, European Centre for Disease Prevention and Control, 2015 ([http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/seasonal\\_influenza/vaccines/Pages/influenza\\_vaccination.aspx](http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/seasonal_influenza/vaccines/Pages/influenza_vaccination.aspx), accessed 7 September 2015).
- Grohskopf LA et al. Prevention and control of seasonal influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices-United States, 2013–2014. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2013, 62:1–28. pmid:25121712