

616.24-002-078:362.9

**ZKUŠENOSTI Z VYŠETŘOVÁNÍ PLICNÍCH ZÁNĚTŮ NA VIROLOGICKÝCH LABORATOŘÍCH
OKRUHOVÝCH HYGIENICKO-EPIDEMIOLOGICKÝCH ODDÍLŮ (1982—1984)**

Plk. MUDr. V. HRONOVSKÝ, CSc.,¹⁾ mjr. MUDr. Z. MORÁVEK,¹⁾ plk. MUDr. J. BRUJ, CSc.,²⁾
pplk. MUDr. J. JAKUBKA,³⁾ pplk. MUDr. F. CIHLA⁴⁾

¹⁾ Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha
(náčelník: plk. MUDr. V. Kotlář, CSc.)

²⁾ Okruhový hygienicko-epidemiologický oddíl, Plzeň
(náčelník: plk. MUDr. V. Hruška)

³⁾ Okruhový hygienicko-epidemiologický oddíl, Bratislava
(náčelník: plk. MUDr. V. Hrtánek)

⁴⁾ Okruhový hygienicko-epidemiologický oddíl, České Budějovice
(náčelník: plk. MUDr. J. Šindelář)

Podle odborné směrnice zdravotnické správy nemocných hospitalizovaných ve spádových
byly na virologických laboratořích OHEO od vojenských nemocnicích s rtg ověřenou diagnó-
ledna 1982 průběžně vyšetřovány materiály od zou plicních zánětů (bronchopneumonie, pneu-

monie — statist. č. 480—485). Cílem bylo přispět v rozsahu současných možností terénní virologické diagnostiky k poznání významu a etiologické účasti virových a některých dalších nebakteriálních původců na vzniku plicních zánětů u vojenské populace. Předkládáme první zkušenosti a závěry z této akce, která byla na jednotlivých OHEO k 31. 3. 1984 dočasně uzavřena a vyhodnocena.

Metodika

Akci předcházely instruktáže lékařů vnitřních oddělení spádových vojenských nemocnic, které provedli a průběžně upřeshňovali virologové OHEO se zaměřením na způsob odběru a zaslání vzorků na virologické vyšetření. Byl vyžadován faryngeální výtěr (odebraný bezprostředně po přijetí nemocného do odběrového média dodaného virologickou laboratorí) a párová (akutní a rekonvalescentní) krev na sérologické vyšetření, odebraná v rozmezí 10 dnů až 3 týdnů.

Laboratorní vyšetření se prováděla podle standardních metodik (9). K **izolačním pokusům** byly používány dostupné tkáňové kultury (paralelně vždy aspoň dvě buněčné linie — HeLa, OL, popř. LEP), v obdobích výskytu chřipky navíc kuřecí embrya. **Sérologická vyšetření** se prováděla mikrotechnikou KFR s antigeny aktuálních variant chřipkových virů A a B (IHE Praha) a komerčními antigeny adenovirů a RSV (Sevac-Imuna). Protilátky k virům parainfluenzy 1—3 se testovaly pomocí mikrotechniky HIT s antigeny získanými z referenční laboratoře Institutu hygieny a epidemiologie. Navíc byly stanovovány KF protilátky k *Mycoplasma pneumoniae*, ornitóze a Q-horečce. Jako pozitivní se hodnotily sérokonverze a signifikantní (tzn. čtyřnásobné) vzestupy KF, respektive HI protilátek v párových sérech. Titry 1 : 64 a vyšší bez průkazu významného vzestupu a rovněž nálezy vyšších protilátkových hladin po vyšetření jednoho séra byly hodnoceny jako suspektně pozitivní, svědčící pro recentně proběhlou infekci bez přímé etiologické účasti na plicním onemocnění.

Výsledky

Izolační pokusy provedené u $\frac{1}{3}$ celkového počtu vyšetřovaných byly pozitivní pouze ve 3 případech (2 procenta), z toho šlo 2krát o adenovirus typu 7 (OHEO Bratislava) a 1krát o chřipku A (OHEO Plzeň). Kromě respiračních virů byla ojediněle izolována agens bez zřejmé etiologické souvislosti s plicní infekcí (1krát HSV, 3krát susp. enterovirus). Velmi nízká zachytnost souvisela zejména s relativně dlouhým intervalem mezi infekcí a hospitalizací většiny nemocných, s pozdními odběry a dodáním materiálů na vyšetření a nepochybně i ne zcela optimálně citlivými izolačními substráty, které měly laboratoře OHEO k dispozici.

Z přehledu **sérologických vyšetření (tabulka 1)** vyplynulo, že z celkového počtu nemocných byly v 82 % případů zpracovány dvojice sér a v 18 % bylo dodáno pouze jedno sérum. Přímá souvislost s některou ze sledovaných infekcí byla na základě významného vzestupu protilátek v párových sérech prokázána u 11,9 procent nemocných. Protilátkové hladiny svědčící pro recentní virovou infekci byly prokázány u 12,9 % všech vyšetřovaných případů. Pozitivní a suspektně pozitivní nálezy podle jednotlivých druhů protilátek shrnuje **tabulka 2** a etiologický podíl sledovaných agens na celkovém počtu pozitivních případů dokresluje **graf 1**.

Tab. 1

Vyšetření plicních zánětů na antivirové protilátky

Nález	OHEO Plzeň	OHEO Bratislava	OHEO České Budějovice	Celkem
Pozitivní*)	22,5 %	10,3 %	5,0 %	11,9 %
Suspektní pozitivní**)	19,0 %	3,0 %	23,4 %	12,9 %

*) Procenta positivity z vyšetřených párových sér

**) Procenta positivity ze všech vyšetřených případů

Z virů, u kterých byla sérologicky prokázána přímá souvislost s plicním onemocněním, převládají jednoznačně adenoviry, představující téměř 50 % pozitivních případů. Z dalších sledovaných původců bylo prokázáno sezónní uplatnění chřipky A (19,5 %), poměrně nízká účast parachřipkových virů (7,3 %), z nevirálních agens nalezen významnější etiologický podíl (14,6 %) *M. pneumoniae*, rovněž se sezónním výskytem. Mezi nálezy zvýšených protilátkových hladin, hodnocenými jako důsledek recentně proběhlých infekcí s pouze možným nepřímým vztahem k plicnímu onemocnění, převládaly rovněž adenoviry (37 %) a chřipka A (18,5 %), významnější podíl v této skupině měl virus parainfluenzy typu 3 (20 %) a chřipka typu B (16,6 %).

Kromě infekcí uvedených v tabulce 2 bylo ve vykazovaném období vyšetřeno u OHEO Bratislava 193 nemocných v nepřímém imunofluorescenčním testu na protilátky k antigenu čeledi Legionellaceae — vesměs s negativním výsledkem.

Diskuse a závěry

Virové pneumonie — podobně jako ostatní méně závažné klinické syndromy spojované s virovými infekcemi dýchacího ústrojí (rinitidy, faryngitidy, laryngitidy, tracheobronchitidy, bronchiolitidy) — mají podle současných poznatků (3, 5, 7 aj.) komplexní etiologii, na níž se u jednotlivých věkových skupin v různé

Tab. 2

Výsledky sérologických vyšetření plicních zánětů – přehled podle druhů protilátek

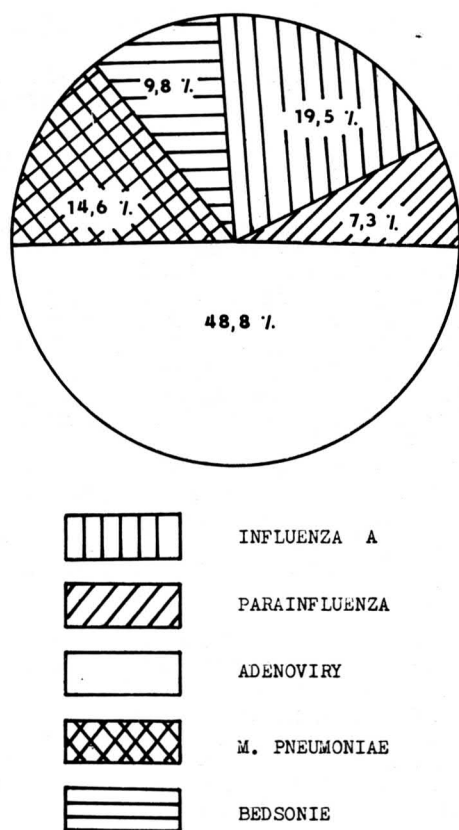
Druh infekce	OHEO Plzeň		OHEO Bratislava		OHEO České Budějovice		Celkem	
	pozitivní	suspektní	pozitivní	suspektní	pozitivní	suspektní	pozitivní	suspektní
Chřipka A	H1N1	2	1	1	–	3	3	4
	H3N2	1	4	–	–	1	5	6
Chřipka B	–	5	–	1	–	3	–	9
Adenoviry	5	7	12	4	3	9	20	20
Parainfluenza	1	1	–	–	–	1	1	1
	2	–	–	–	–	–	–	–
	3	1	3	1	–	8	2	11
RSV	–	–	–	–	–	2	–	2
M. pneumoniae	4	–	1	–	1	–	6	–
Bedsonie (ornitóza)	3	–	1	1	–	–	4	1
Celkem	20	20	16	6	5	28	41	54

míře podílí na 200 sérologicky odlišitelných virů, patřících taxonomicky do šesti velkých čeledí (Ortomyxoviridae, Paramyxoviridae, Picornaviridae, Coronaviridae, Adenoviridae a Herpesviridae).

Převážně virovou etiologii mají bronchiolitidy a pneumonie kojenců a dětí do 2 let, kde je nejčastější příčinou respirační syncytiální virus (RSV) a v menší míře viry parainfluenzy 1 a 3. U starších dětí a mladých dospělých je primární virová pneumonie již poměrně vzácná a její nejčastější příčinou je M. pneumoniae. Výjimkou jsou — i podle zahraničních údajů (2) — vojenské kolektivy, kde kromě období vzplanutí chřipky jsou nejčastějšími původci plicních zánětů adenoviry (zejména sérotypy 3, 7 a méně často 21 — vesměs patřící do podrodu B), druhé místo zaujímá M. pneumoniae. U dospělé civilní populace je podíl adenovirů na vzniku nebakteriálních plicních zánětů výrazně nižší a uplatňují se zejména sérotypy 1, 2, 5 a 6 z podrodu C. U lidí nad 40 let je nejčastější příčinou virové pneumonie chřipkový virus — převážně typu A — přičemž incidence pneumonií závisí výrazně na biologických a epidemiologických zvláště dané chřipkové infekce. Viry jiných taxonomických skupin

(rinoviry, coronaviry, herpesviry — zejména EBV, coxackieviry A a B, echoviry) mohou sice u oslabených dospělých jedinců vést sporadicky až k vzniku plicních zánětů, jednoznačně však v této věkové skupině převažuje bakteriální etiologie. Specifickým problémem jsou sekundární bakteriální komplikace primárních chřipkových pneumonií, jejichž incidence, pohybující se u věkových skupin do 50 let pod 10 %, progresivně vzrůstá u šedesátiletých a starších na 70 % i více (3).

Ve shodě s citovanými klinicko-epidemiologickými údaji ukazují výsledky našich laboratorí, opírající se o sérodiagnostiku, na relativně malý (12 %), ale nikoli zanedbatelný přímý podíl virových původců — zejména adenovirů — na vzniku plicních zánětů u vojáků. Současně nepřímo naznačují, že zde etiologicky převažují bakteriální agens, která se, jak nasvědčují obvyklý klinický průběh, vedlejší laboratorní nálezy i odezva na antibiotickou léčbu, uplatňují jako sekundární infekce i u většiny případů, kde sérologická vyšetření ukazují na etiologii primárně virovou, popřípadě mykoplasmatickou. Bez hlubší analýzy lze obtížně interpretovat vcelku překvapivý nálezní signifikantního vzestupu anti-bedsoniových protilá-



Graf 1. Podíl jednotlivých sledovaných agens na etiologii plicních zánětů

tek, tvořících téměř 10 % pozitivních výsledků.

Významné vzestupy protilátkových hladin se až na výjimky nepodařilo potvrdit izolací a identifikací příslušných původců ve výtěrech od nemocných. Jednotlivé pozitivní případy nebyly rovněž většinou korelovány s výsledky bakteriologického vyšetření, s dalšími laboratorními nálezy a klinickými závěry. Proto má virologická diagnostika pouze informativní hodnotu a výsledky nelze jednoznačně interpretovat, tzn. odlišit primární virové infekce dýchacích cest s následným plicním postižením od viróz probíhajících před bakteriálními infekcemi, paralelně s nimi nebo je komplikujících.

Hlavním důvodem nízké záchytnosti izolačních pokusů je nepochybně časový faktor. Hospitalizace nemocných zpravidla až ve fázi klinicky rozvinutých plicních zánětů (tedy za týden i déle po začátku případné virové infekce) značně snižuje pravděpodobnost izolace virových agens z míst primárního pomnožení ve sliznici horních dýchacích cest, a to zejména při běžné odběrové technice faryngeálních výtěrů. Zahraniční laboratoře, zabývající se rychlou virologickou diagnostikou, preferují v posledních letech náročnější zpracování nasofaryngeálních sekretů, získaných od akutně nemocných aspirací, především pro větší obsah pozitivních buněk ve srovnání s výplachy nebo faryngeálními výtěry (4, 11, 12).

Vhodná odběrová technika je ovšem pouze jedním z předpokladů úspěšné izolace virových původců, popř. imunofluorescenční nebo imunoenzymatické detekce virových antigenů přímo v klinických vzorcích (10, 11 aj.). Záchytnost, respektive spolehlivost přímé diagnostiky ovlivňuje významně i uložení a transport vzorků do laboratoře, kdy je nutné vhodnou teplotou zamezit destrukci a inaktivaci virového materiálu ve vzorcích přítomnými proteolytickými enzymy. Podmínkou úspěchu izolačních vyšetření je konečně vhodné spektrum kvalitních a citlivých buněčných kultur na virologických laboratořích.

Protože uvedené podmínky nelze zatím na úrovni OHEO v celém rozsahu důsledně zabezpečit a realizovat, je třeba za základ virologického vyšetřování etiologie plicních zánětů pokládat v nejbližší budoucnosti nadále sérodiagnostiku.

Průběh i výsledky hodnocené akce byly zčásti poznamenány organizačními problémy a ne vždy uspokojivou úrovní spolupráce s vnitřními odděleními vojenských nemocnic. Ani opakovaná iniciativa virologů nezlepšila výrazněji přístup ze strany klinických pracovníků, zejména při zajišťování úplného, včasného a kvalitního odběru materiálu podle doporučené metodiky a při předávání potřebných informací. Důsledkem bylo (zvláště u OHEO Bratislava a u OHEO České Budějovice) vysoké procento neúplných vyšetření a odpovídající znehodnocení výsledků. Hlavním důvodem je zřejmě současná stále poměrně komplikovaná a časově náročná virologická laboratorní diagnostika, která nepřináší z léčebně preventivního hlediska bezprostřední efekt a nemotivuje tedy klinické lékaře k aktivní spolupráci.

Nedostatkem byla i nízká zainteresovanost bakteriologických laboratoří OHEO, zejména pokud jde o aktivní účast při korelaci virologických a bakteriologických nálezů. Domníváme se, že tato spolupráce je účelná a její realizace může přinést cenné poznatky a zkušenosti, přestože interpretace výsledků bakteriologických vyšetření je objektivně zkreslena a znehodnocena tím, že značná část nemocných je hospitalizována po zahájení antibiotické léčby na ošetrovnách útvarů.

Přes zmíněné problémy, které ovlivnily úplnost a komplexnost virologické kontroly plicních zánětů, lze akci hodnotit jako potřebnou a užitečnou. Kromě vlastních dílčích výsledků, které mj. ukázaly na přímou souvislost plicních zánětů s virovými, respektive nebakteriálními infekcemi v téměř 12 % případů a ozřejmily podíl jednotlivých původců, přispěla akce nesporně k ovlivnění myšlení zvláště mladých klinických lékařů a upozornila na potřebu a perspektivnost spolupráce s virologickými laboratořemi, a to přesto, že virologická diagnostika akutních respiračních infekcí nemůže být zatím bezprostředním přínosem pro jejich cílenou racionální terapii.

Ukazuje se, že k dosažení tohoto cíle je třeba v laboratorních zařízeních ČSLA urychleně vytvářet zejména materiálně technické podmínky pro zavádění a využívání moderních citlivých a specifických metod rychlé virologické diagnostiky, reprezentovaných dnes zvláště enzymoimunologickými technikami ve formě ELISA testů pro přímou detekci virových antigenů v klinických vzorcích i k průkazu protilátek zejména třídy IgM u vhodných infekcí (1, 6, 8, 12, 13).

Vzhledem k celkově pozitivnímu vyznění hodnocené akce bylo doporučeno ve vyšetřování plicních zánětů na virologických laboratorních OHEO od r. 1985 pokračovat. Získané zkušenosti se staly podnětem k formulování konkrétních doporučení, zaměřených mj. na metodické zkvalitnění zejména izolačních pokusů a zlepšení spolupráce s klinickými odděleními vojenských nemocnic i s bakteriologickými laboratorními OHEO v zájmu komplexní analýzy jednotlivých případů a tím i objektivního hodnocení výsledků.

Souhrn

Sdělení přináší zkušenosti a závěry z virologického vyšetřování provedeného na laboratorních OHEO u nemocných hospitalizovaných ve spádových vojenských nemocnicích s ověřenou diagnózou plicního zánětu. Kromě vlastních laboratorních výsledků, které svědčí o přímé souvislosti onemocnění s virovou, respektive nebakteriální infekcí zhruba u 12 % případů při výrazném podílu adenovirů, jsou hodnoceny příčiny nízké zachytnosti izolačních pokusů, analyzovány některé metodické a organizační otázky a diskutovány možnosti zlepšení další práce v této oblasti.

Literatura

1. BRŮČKOVÁ, M. - ŠVANDOVÁ, E. - SYRŮČEK, L.: Detection of respiratory syncytial virus serum antibo-

dies by an ELISA system. *Acta virol.*, 25, 1981, č. 1, s. 41—48.

2. BRYANT, R. E. - RHODES, E. R.: Clinical features of adenoviral pneumonia in air force recruits. *Amer. Rev. respir. Dis.*, 96, 1967, s. 717—720.
3. DOUGLAS, R. G. Jr.: Respiratory diseases. Antiviral agents and viral diseases of man. New York, Raven Press 1979, s. 385 až 459.
4. GARDNER, P. I. - McQUILLIN, J.: Rapid virus diagnosis. Application of immunofluorescence. 2. ed. London, Butterworth and Co. Ltd, 1980. 317 s.
5. HANČIL, J. - NOVÁK, M. - VOMÁČKA, J.: Klinika a terapie virových respiračních nákaz u dospělých. *Prakt. Lék. (Praha)*, 63, 1983, č. 18, s. 660—661.
6. HARMON, M. W. - PAWLIK, K. M.: Enzyme immunoassay for direct detection of influenza type A and adenovirus antigens in clinical specimens. *J. clin. Microbiol.*, 15, 1982, č. 1, s. 5—11.
7. HEINZ, F. - PLESNÍK, V. - CHOBOT, S. - KUPEC, V.: Virologická surveillance respiračních onemocnění. *Čs. Epidemiol.*, 31, 1982, č. 1, s. 1—8.
8. HILL, H. R. - MATSEN, J. M.: Enzyme-linked immunosorbent assay in the serologic diagnosis of infectious diseases. *J. infect. Dis.*, 147, 1983, č. 2, s. 256—263.
9. LENNETTE, E. H. - SCHMIDT, N. J.: Laboratorní vyšetřovací metody u virových a rickettsiálních nákaz. 1. vyd. Praha, Avicenum 1974. 590 s.
10. ORSTAVIK, I. et al.: Viral diagnoses using the rapid immunofluorescence technique and epidemiological implications of acute respiratory infections among children in different European countries. *Bull. Wld Hlth Org.*, 62, 1984, č. 2, s. 307—313.
11. Rapid laboratory techniques for the diagnosis of viral infections. Report of a WHO scientific group. Wld Hlth Org. Technical Series 661. Geneva 1981.
12. SARKKINEN, H. K. et al.: Detection of respiratory syncytial, parainfluenza type 2 and adenovirus antigens by radioimmunoassay and enzyme immunoassay on nasopharyngeal specimens from children with acute respiratory diseases. *J. clin. Microbiol.*, 13, 1981, č. 2, s. 256—267.
13. YOLKEN, R. H.: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). A practical tool for rapid diagnosis of viruses and other infectious agents. *Yale J. Biol. Med.*, 53, 1980, s. 85—92.

Klíčová slova: Etiologie plicních zánětů; Virologické vyšetřování; Virové respirační infekce.