

K NEOBVYKLÝM PŮVODCŮM SOUDOBÝCH STŘEVNÍCH EPIDEMIÍ

Plk. MUDr. Richard KAHLICH, DrSc., MUDr. Antonín PALEČEK, CSc.,
kpt. MUDr. Vladimír RADOVNICKÝ, npor. MUDr. Ivan KUŠIAK
Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha
(náčelník: plk. MUDr. V. Kotlář, CSc.)

V předchozích sděleních jsme přinesli řadu důkazů o tom, že v současné době již nelze vystačit se vžitým stereotypem „salmonela — shigela“ a že bližší poznání soudobé epidemiologie střevních nákaz je podmíněno systematickou aplikací širší diagnostiky vycházející z laboratorní báze speciálních mikrobiologických postupů (10). Vyplynulo to například ze sestavy 515 sporadických infekcí gastrointestinálního traktu, kde by bylo zůstalo bez užití speciálních postupů etiologicky nevyjasněno plných 17,8 % onemocnění vyvolaných „novými“ nebo dosud málo diagnostikovanými původci (17).

Vedle toho jsme referovali o několika hromadných onemocněních, jejichž etiologické objasnění bylo rovněž podmíněno užitím širší diagnostiky (11, 14, 15, 18). V současné době je již k dispozici početná sestava 22 epidemií, kde se neuplatnily ani salmonely ani shigely. V tomto sdělení chceme podat stručný přehled o zastoupení „nových“ agens, o úloze speciálních postupů při jejich odhalení a o vztazích jednotlivých původců ke klinicko-epidemiologické syndromologii získané komplexní klinickou, epidemiologickou a mikrobiologickou analýzou.

Použité metodiky

Při zaměření na širší okruh původců jsme použili vedle klasických bakteriologických postupů speciální techniky, které byly předem rozpracovány a jsou podrobněji popsány na jiném místě (10).

Koordinace základní diagnostiky příslušníků z čeledi Enterobacteriaceae a diagnostiky „nových“ či méně obvyklých agens se řídila celostátně platnými „Směrnicemi pro týmovou spolupráci VÚHEM a terénních laboratoří na výzkumu soudobé epidemiologie střevních nákaz“ (16). Laboratoře zasílaly na VÚHEM vzorky nativní stolice (12), které sloužily k diagnostice kampylobakterů, klostridií, giardií, nekultivovatelných virů a k vyšetřování koproleukogramu. Vedle toho dodávaly primokultury Endo a párová séra.

Mikroaerofilní podmínky pro selektivní kultivaci *Campylobacter jejuni* jsme zajišťovali v odsátých zavařovacích sklenicích při užití brucelového krevního agarů preexponovaného papírovému nosiči s antibiotiky (inkubace 40 hodin při 42 °C) (9). Anaerobní kultivaci *Clostridium perfringens* jsme modifikovali při dodržení základních postupů navržených Neu-

bauerem (20), k bližší diferenciaci napomohl reverzní CAMP test (7).

Záchyt enterotoxigenních kmenů *Staphylococcus aureus* jsme usnadňovali primokultivací na selektivním Chapmanově agaru. Při zaměření na *Yersinia enterocolitica* jsme paralelně kultivovali za pokojové i chladničkové teploty a stolice předem opracovávali KOH (22).

Zvláštní pozornost jsme věnovali laktóza-pozitivním kmenům *E. coli*. Kmenová individua jsme se snažili diferencovat podle odlišného zkvašování salicinu, dulcitu a sacharózy do 8 různých „biotypů“ (13) a podle sérotypu. Pokud některý kmen prevaloval, vyšetřili jsme jej na produkci termolabilního enterotoxinu v modelu izolované králičí kličky (2) a od roku 1984 též s užitím stabilizované buněčné linie Y₁ derivované z nádoru myši nadlevinky dle Donty a spol. (3). Produkci termostabilního enterotoxinu jsme testovali v modelu sající myši dle Gianelly (6). K průkazu kolonizačního faktoru CFA I. jsme užíli metodiku popsanou Evansem (4). Invazivitu jsme zkoumali Serenyho testem (21).

Preparáty pro mikroskopické vyhledávání cyst *Giardia intestinalis* jsme zhotovovali nezkřácenou Faustovou flotační metodou (5).

S využitím zkušeností publikovaných Harrisem (8) jsme hledali mikroskopicky leukocyty ve vzorcích nativní stolice barvených dle Giemsy.

Při negativních výsledcích širší bakteriologické diagnostiky jsme přistupovali k virologickému vyšetření.

Agregáty nekultivovaných virů Norwalk-like (27 nm) jsme hledali imunoelktronmikroskopickým vyšetřením extraktů nativních stolic inkubovaných s rekonvalescentními séry. Suspenze stolic byly dále vyšetřovány testem ELISA, Bioveta, metodikou doporučenou v setu pro průkaz rotavirového antigenu ve stolici. V komplement-fixačním testu byl používán jako antigen rotavirový kmen SA 11 pomnožený na tkáňových kulturách MA — 104 (18). V neutralizačním mikrotestu byla použita řada antigenů enterovirů (18) a polioviry. Podrobnosti jsou uvedeny v práci Daneše aj. (1).

Výsledky

Od poloviny roku 1981 do poloviny roku 1985 jsme zachytili celkem 22 hromadných střevních onemocnění, kde nebyly nalezeny klasické

ké salmonely ani shigely. U 17 z nich byly v duchu směrnic pro týmovou spolupráci k dispozici materiály nezbytné pro širší diagnostiku neobvyklých původců. Základní údaje jsou v tab. 1. Ve 12 případech se uplatnily mikroby uvedené ve druhém sloupci tab. 1 jako zcela nepochybné etiologické agens, vysoce pravděpodobná pak byla účast *E. coli* 0 124 v PD, stafylokoků v KL, klostridií v R a toxigenního *E. coli* v T. Zcela nevyjasněnou zůstala — vzdor komplexnímu bakteriologickému a virologickému vyšetření — pouze epidemie Š. Podrobnější popis nejzajímavějších z těchto epidemií lze nalézt v samostatných sděleních (11, 14, 15, 18).

Ve třetím sloupci tab. 1 je uveden klinický syndrom odpovídající obrazu, který převládal u většiny postižených.

Ve čtvrtém sloupci je pak nejhrubší epidemiologická charakteristika informující o podílu nemocných z celkového počtu exponovaných a o trvání epidemie v hodinách (explozivní výskyt) nebo ve dnech (protažený výskyt). Zdroj ani vehikulum nákazy se většinou nepodařilo odhalit. Pátrání bylo ztíženo i tím, že v kuchyních ČSLA nejsou uschovávány vzorky stravy.

Údaje 3. a 4. sloupce tab. 1 představují klinicko-epidemiologickou syndromologii, jejíž vztahy k neobvyklým původcům posuzujeme blíže v diskusi.

Tab. 2 umožňuje představu o tom, jaký podíl měly na výsledném úspěchu etiologického pátrání techniky podmiňující primární záchyt agens, přesnější určení vlastností mikroba a vyloučení jiných kandidátů na příslušný klinicko-epidemiologický syndrom.

Tab. 1

Původci a syndromy v epidemiích neobvyklé etiologie

Epidemie	Původce	Syndrom	Podíl nemocných v %	Trvání epidemie
LM 1981 ¹⁾ PD 1982 ¹⁾	Enteroinvazivní <i>E. coli</i> 0 124	enterocolitis febr. gastroenteritis subfebr.	14 28	4 dny 2 dny
NS 1982 ²⁾ SL 1982	<i>Campylobacter jejuni</i>	enterocolitis febr. enterocolitis febr.	13 8	4 dny 7 dní
LE 1981 P 1983	<i>Citrobacter</i>	gastroenteritis subfebr. enterocolitis subfebr.	25 12	3 dny 10 h
MF 1981 ³⁾	<i>Yersinia enterocol.</i>	gastroenteritis febr.	20	5 dní
KL 1983	<i>Stafylococcus aureus</i>	gastroenteritis subfebr.	10	12 h
HP 1981 R 1982 H 1984	<i>Clostridium perfringens</i>	enterocolitis afebr. gastroenteritis subfebr. enterocolitis afebr.	30 4,2 40	7 h 4 dny 4 h
VG 1982 T 1984	Enterotoxigenní <i>E. coli</i>	gastroenteritis subfebr. enterocolitis afebr.	31 10	6 h 7 h
PK 1981 VN 1981	Enterotoxigenní <i>Enterobacter</i>	enterocolitis afebr. enterocolitis afebr.	18 42	6 h 8 h
Š 1984	neobjasněn	gastroenteritis febr.	1,2	8 dní
K 1985	Virus Norwalk	gastroenteritis subfebr.	7,3	4 dny

¹⁾ epidemie vyšetřené pracovníky OHEO Plzeň

²⁾ epidemie vyšetřená pracovníky OHEO Bratislava

³⁾ epidemie vyšetřená pracovníky OHEO České Budějovice

Tab. 2

Účast speciálních postupů na úspěchu etiologického pátrání

Speciální přístup	Konkrétní metoda	Počet epidemií
Technika podmiňující primární záchyt agens	Anaerobní kultivace	3
	Selektivní mikroaerofilní kultivace	2
	Chladová kultivace na DC	1
	Kultivace na Chapmanu	1
	Širší virol. diagnostika	1
Přesnější určení vlastností mikroba	Toxigenita (<i>coli</i> , <i>enterobacter</i>)	3
	Určení invaziv. sérotypu <i>E. coli</i>	2
	Biotypizace lakt. + <i>E. coli</i>	1
	Určení epidem. sérotypu a kožního testu (<i>citrobacter</i>)	1
Vyloučení jiných kandidátů na syndrom	Užitím širší diagnostiky	6

Diskuse

K přínosu širší diagnostiky

V nepříznivé situaci, kdy zůstávalo bez etiologického vyjasnění obvykle až 40 % epidemií, jsme asi před 5 lety dokončili rozpracování laboratorní báze speciální širší diagnostiky pro záchyt nových nebo dosud málo diagnostikovaných agens.

Analýza sestavy 17 epidemií zabezpečených odpovídajícím výchozím materiálem potvrdila zcela zásadní význam nového laboratorního přístupu doplněného komplexní klinicko-epidemiologickou charakteristikou. Za uvedených podmínek se totiž podařilo objasnit plných 94 procent hromadných onemocnění, kde se neuplatnily klasické salmonely ani shigely.

I kdybychom započítali 5 epidemií z počátečního období výzkumu, které zůstaly s největší pravděpodobností nevyjasněny pro nedostatek výchozích materiálů požadovaných směrnice, byl by i tak podíl vyjasněných vysoký, tj. asi 72,7 %.

V každém případě byla analýza epidemií daleko úspěšnější než v sestavě 515 sporadických onemocnění, kde vedly speciální postupy k objasnění „nových“ agens jen v 17,8 %. Zcela neobjasněno tu zůstalo 10,7 % sporadických onemocnění a ve 38,1 % případů byly nalezeny podmíněné patogenní mikroby, jejichž etiologická účast je u sporadických onemocnění vždy problematická. Nejčastěji tu jde o *citrobaktery*, jejichž účast v hromadných onemocněních bývá naproti tomu snáze hodnotitelná, neboť se většinou najde identický sérotyp u velké většiny nemocných (15), event. i v inkriminovaném pokrmu či ve vodě.

Jediný případ, kdy jsme nezachytili vzdor komplexnímu přístupu ani stopu po bakteriál-

ním či virovém agens, byla epidemie Š. Vzhledem k tomu, že se svou klinicko-epidemiologickou charakteristikou věrně podobala pozdější epidemii K (poslední v tab. 1), pojali jsme zpětně podezření, že mohla být rovněž způsobena nekultivovatelnými viry Norwalk (18). Při epidemii Š nebyla totiž k dispozici dost citlivá metodika potřebná k jejich spolehlivému odhalení.

K informativnosti klinických syndromů

Zisk velkého počtu epidemií byl dobrou příležitostí k porovnání, do jaké míry mohou být nálezy neobvyklých původců asociovány s klinicko-epidemiologickou syndromologií.

Preferujeme-li pro takové srovnání jednoznačně objasněné epidemie, byla naprostá shoda mezi obrazem febrilní enterokolitidy s výraznými počátečními bolestmi břicha a méně nápadným průjmem v obou případech kampilobakterií. Epidemie *E. coli* 0124 proběhla jako vcelku typická febrilní enterokolitida. Podobný průběh měla i yersinióza, i když bylo u některých pacientů pozorováno počáteční zvracení. Shoda byla též mezi nálezy toxigenních enterobakterů v ÚVN a PK na jedné straně a typickým klinickým obrazem explozivní toxikózy na straně druhé. Nálezy klostridií v HP a H byly asociovány s převažujícím obrazem afebrilní enterokolitidy — podobně jako v sestavě sporadických onemocnění (17). Obě citrobakterové epidemie v LEM a P byly spojeny se smíšeným obrazem subfebrilní či afebrilní enteritidy až gastroenteritidy — též jako v sestavě sporadických případů (17).

Pokud jde o 4 epidemie, jejichž agens bylo hodnoceno jako vysoce pravděpodobné, nebyl určitý podíl subfebrilních obrazů typický pro čistou stafylokokovou gastroenteritidu v KL ani pro obraz čisté intoxikace *E. coli* v T. Typicky dyzenteriformní nebyl ani obraz spojený s nálezem *E. coli* 0124 v PD, kde nebyl proveden test na invazivitu. Zcela výjimečné postavení má febrilní gastroenteritida v R, kde jsme vedle klostridií předpokládali ještě účast nepoznaného virového agens (15). Lze shrnout, že klinicko-epidemiologická syndromologie byla v souladu s nalezenými mikroby všude tam, kde byla jejich etiologická účast nepochybná. Praktický význam tohoto zjištění je značný. V časové či materiální tísní lze na podkladě syndromologie zaostřit pozornost a do určité míry limitovat složité postupy širší diagnostiky ve směru maximální šance na záchyt odpovídajícího agens podobně, jak jsme to viděli v sestavě sporadických onemocnění (17). Na základě asociace původců s klinicko-epidemiologickou syndromologií lze přijímat v napjatém počátečním stadiu hromadného onemocnění hypotézu o uplatnění užšího okruhu původců a podle toho přijímat adekvátní opatření namířená k přerušení hlavního článku procesu (uplatnění obligátně či fakultativně kon-

zumovaného vehikula, nebo důraz na kontaktní nákazu]. Svou roli hraje v tomto raném stadiu i koproleukogram, který nám již třikrát prozradil, že se za salmoneliformním klinickým obrazem ve skutečnosti skrývá invazivní *Shigella sonnei*. Takové rozhodování je reálné již 1 až 2 dny před získáním výsledků bakteriologického vyšetření, ze kterého pak vyplynou eventuální konečné korekce o koncepci protiepidemické práce v ohnisku.

K další perspektivě výzkumu

Rozbor sestavy sporadických (17) i hromadných onemocnění naznačil, že hlavní rezervy zůstávají s největší pravděpodobností v bližším poznání účasti různých enteropatogenních virů a podmíněně patogenních agens, přičemž nelze zanedbat ani anaeroby.

Bude třeba pátrat po kultivovatelných adenovirech a hlavně získat představu o skutečné účasti nekultivovatelných Norwalk-like virů, které jsme nedávno přistihli v epidemii febrilní gastroenteritidy spojené s výskytem kontaktních nákaz (18). Rotaviry postihují daleko spíše děti, i když nechybí zprávy o jejich uplatnění u dospělých (19).

Pokud jde o podmíněně patogenní bakterie, bude třeba usilovat o vhodný laboratorní průkaz patogenity, pokud vůbec tkví podstata ve vybavení mimořádnými faktory virulence, a ne jen ve vzájemném vztahu podmíněný patogen — makroorganismus, nebo dokonce jen v uplatnění infekční dávky. Průkaz protilátek se nám na tomto poli vůbec neosvědčil a to včetně negativních výsledků u rekonvalescentů po hromadné citrobakterové subfebrilní enteritidě (15).

Vzhledem k naději, že nalezneme další speciální postupy pro zachyt dosud neidentifikovaných bakteriálních či virových agens, budeme shromažďovat vzorky nativní stolice z neobjasněných epidemií a vyšetřovat je retrospektivně v event. novém zaměření.

Z organizačního hlediska je náš výzkum trvale narušován prohřešky proti signalizaci epidemií, nedodržováním směrnic pro týmovou spolupráci a dále i tím, že již nejsou v ČSLA uchovávány vzorky stravy.

Pozdní signalizace je na závalu hlavně při analýze alimentárních intoxikací a toxikoinfekcí, u nichž je třeba vzhledem k explozivnímu průběhu a rychlému odeznívání klinického obrazu zajišťovat odběr materiálu co nejčasněji.

Nedostatek vzorků nativní stolice, primokultur Endo a párových sér primárně znemožňuje odkrytí řady agens, jak vyplývá z metod.

Průkaz mikroba v inkriminovaném pokrmu či v jiném vehikulu nákazy je nezbytný pro pochopení mechanismu přenosu a pro přijetí racionálních opatření k jeho přerušení. Navíc se požaduje, aby byl obviněný mikrob — především pak podmíněný patogen — současně nale-

zen i v daném vehikulu nákazy, má-li být označen jako etiologické agens *lege artis*.

K organizačně-metodickým aspektům studie

Během uplynulých pěti let se podařilo sebrat reprezentativní materiál vycházející z týmového a systematického sledování sporadických i hromadných onemocnění s užitím komplexního klinicko-epidemiologického přístupu a širší diagnostiky kandidátů na původce soudobých střevních infekcí. V literatuře lze nalézt jen ojedinělé zprávy o komplexním zpracování materiálů u příležitosti mimořádných nálezů neobvyklých mikroorganismů, nikoli však v rámci systematického a cíleného sledování.

Uvedený přístup potvrdil správnost vytyčené koncepce širší diagnostiky, která již přešla do povědomí terénních lékařů a kompenzuje nedostatky vžitého stereotypu zaměřeného dosud převážně na klasické salmonely a shigely.

Během výzkumu se zformoval zdatný řešitelský tým epidemiologů, bakteriologů, virologů a parazitologů, který je schopen soustavné činnosti ve prospěch vojsk ČSLA. Výsledky, které postupně získává, představují reálnou bázi pro bližší poznání epidemiologických rysů „nových“ nebo dosud málo diagnostikovaných agens a jejich zařazení do systému racionální represe a prevence infekcí gastrointestinálního traktu.

Souhrn

V sestavě 17 hromadných infekcí gastrointestinálního traktu s negativním nálezem salmonel a shigel byly aplikovány speciální techniky širší mikrobiologické diagnostiky pro zachyt kampylobakterů, yersinií, enteroinvazivních a toxigenních *E. coli*, anaerobních klostridií a enteropatogenních virů. Skutečnost, že byla v 16 případech odkryta etiologická účast nových nebo dosud málo diagnostikovaných agens, potvrdila správnost nového přístupu překračujícího klasický stereotyp salmonela-shigela. Ukázala se vysoká informativnost klinicko-epidemiologického syndromů pro efektivnější práci v ohnisku. V dalším výzkumu bude věnována větší pozornost virům a podmíněně patogenním bakteriím.

Literatura

1. DANEŠ, L. - KOZA, J. - MATYÁŠOVÁ, I. aj.: Acta Hyg. Epid. Microbiol., 13, 1983, č. 4, s. 36—45.
2. DE, S. N.: J. Path. Bact., 71, 1956, č. 3, s. 201—208.
3. DONTA, S. T. - MOON, M. V. - WHIP, S. C.: Science, 183, 1974, č. 5, s. 334—336.
4. EVANS, D. J. - EVANS, D. G. - DuPONT, H. L.: Infect. Immun., 23, 1975, č. 3, s. 339—339.
5. FAUST, E. C. - SAWITZ, W. - TOBIE, J. aj.: J. Parasitol., 25, 1939, č. 2, s. 261—262.
6. GIANELLA, R. A.: Infect. Immun., 14, 1976, č. 1, s. 95—101.
7. HANSEN, M. V. - ELIOT, L. P.: J. Clin. Microbiol., 12, 1980, č. 4, s. 617—618.

8. HARRIS, J. C. - DuPONT, H. L. - HORNICK, R. B.: Ann. Intern. Med., 76, 1972, č. 4, s. 697—703.
9. KAHLICH, R. - PALEČEK, A. - PAROUBEK, M. aj.: Bull. Čs. Spol. Mikrobiol. ČSAV, 22, 1981, č. 6, s. 7 až 9.
10. KAHLICH, R. - PALEČEK, A.: Inf. Zprav. VLIS, 23, 1982, č. 1, s. 51—84.
11. KAHLICH, R. - PALEČEK, A. - KORYCH, B. aj.: Voj. zdrav. Listy, 51, 1982, č. 5, s. 260—263.
12. KAHLICH, R.: Voj. zdrav. Listy, 51, 1982, č. 4, s. 200 až 201.
13. KAHLICH, R. - NEMEC, A. - CAHA, J.: Voj. zdrav. Listy, 51, 1982, č. 3, s. 108—112.
14. KAHLICH, R. - KOTLÁŘ, V. - PALEČEK, A. aj.: Čas. Lék. čes., 121, 1982, č. 47, s. 1452—1456.
15. KAHLICH, R. - PALEČEK, A. - MANKOVECKÝ, L. aj.: Voj. zdrav. Listy, 53, 1984, č. 2, s. 70—74.
16. KAHLICH, R. - PALEČEK, A.: Závěrečná zpráva o výzkumném úkolu „Výzkum soudobé epidemiologie střevních nákaz“, Praha 1985.
17. KAHLICH, R. - PALEČEK, A. - TESAŘOVÁ, J. aj.: Voj. zdrav. Listy, 54, 1985, č. 2, s. 58—63.
18. KAHLICH, R. - RÝC, M. - DANEŠ, L. aj.: Inf. Zprav. VLIS, 27, 1986, č. 2.
19. MARRIE, T. J. - LEE, S. H. S. - FAULKNER, R. S. aj.: Arch. Intern. Med., 142, 1982, č. 2, s. 313—316.
20. NEUBAUER, M.: Střevní onemocnění člověka vyvolané Clostridium perfringens. Praha, Avicenum 1976.
21. SERÉNY, B.: Acta Microbiol. Hung., 5, 1957, č. 2, s. 367—370.
22. WEISSFELD, S. A. - SONNENWIRTH, A. C.: J. Clin. Microbiol., 15, 1982, č. 3, s. 508—510.

Klíčová slova: Širší mikrobiologická diagnostika; Málo diagnostikované původci epidemií; Klinicko-epidemiologické syndromy.