

616.9-036.22-037-097:576.851.214

**POZNATKY Z DLOUHODOBÉHO STUDIA EPIDEMIOLOGIE A IMUNOLOGIE
STREPTOKOKOVÝCH NÁKAZ**

Plk. MUDr. Richard KAHLICH, DrSc.

Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie v Praze
(náčelník: plk. MUDr. Vladimír Kotlář, CSc.)

Již dvacet let je ve výzkumném programu epidemiologického oddělení VÚHEM systematické studium epidemiologie a později i imunolo-

gie streptokokových nákaz. Nejširší rámec tvořily otázky motivované naléhavou praktickou potřebou lepší orientace v analýze, racionální

represi a profylaxi streptokokové angíny, která trvale figuruje jako závažná položka infekční nemoci vojsk.

Předložený přehled šesti etap výzkumu zachycuje stručný souhrn výsledků, které byly ve všech podrobnostech publikovány během dvaceti let v našem nebo v mezinárodním tisku. Velký rozsah tematiky nedovolil ilustraci textu tabulkami a grafy. Z téhož důvodu a dále proto, že jsme se při výzkumu epidemiologie a imunologie streptokokových nákaz většinou ubírali vlastními cestami, nebylo v tomto rámci možné citovat řadu jiných autorů, jejichž práce jsou uvedeny v tematické souvislosti s našimi jednotlivými sděleními.

V první etapě od roku 1962 jsme čerpali především z longitudinálního sledování nově zformovaných kolektivů a z podrobné analýzy hromadných onemocnění, opřené o sérologické určování kmenů. V každém kolektivu jsme našli i v klidovém období nosiče pyogenních streptokoků skupiny A i kmenů jiných skupin, především C a G. Průměrná incidence prokázaných streptokokových angín činila v sestavě sporadických onemocnění $1 \pm 0,8$ na 100 osob a měsíc (1, 2, 3). V sérologických přehledech anti-streptolysinu O byl nalézán značný podíl asymptomatických nákaz (11).

Poznání zákonitostí o nezávislosti epidemických ukazatelů manifestnosti a kontagiozity a o závislosti výsledné nemoci na součinu jejich hodnot z počátečního období zvýšeného výskytu angíny nám umožnily rozpracovat metodiku krátkodobé epidemiologické prognózy. V souladu s poznáním čtyř typických situací jsme stanovili rozdílnou taktiku cíleného protiepidemického zásahu včetně racionálního využití penicilínu (4, 5). Naše poznatky o obecné variabilitě procesu šíření a patogenního uplatnění streptokoků zakotvené jako závazná směrnice v předpise Zdrav-1-1 ukázaly, že masová profylaxe penicilínem odvozená empiricky v podmínkách americké armády a indikovaná při dosažení jednotného konvenčního ukazatele kritické incidence 3,8 onemocnění/1000/týden je vědecky neopodstatněná.

Po vyřešení krátkodobé prognostiky jako základu racionální represe jsme směřovali v druhé etapě od roku 1966 ke studiu teoretických základů imunoprofylaxe s bližším cílem rozpracovat surveillance streptokoků. Stáli jsme před úkolem zkonfrontovat informace pramenící z epidemicity typů a ze stavu kolektivní imunity vůči nim.

Nezbytnost zvládnout imunologické metodiky vedla k podrobnému studiu mechanismu baktericidie streptokoků v lidské krvi. Výsledkem byla prohloubená představa o mechanismu humorální imunity. Vysoká efektivnost opsonofagocytózy je zajištěna kooperací protilátek anti M neutralizujících antifagocytární M protein a dále nespecifických imunitních faktorů, tj. nespecifické termostabilní protilátky (nazvané nespecifický kofaktor) a dále komple-

mentu lidského původu, hlavně složky C_3 (7, 8, 9, 10).

Situace je ilustrována na schématu 1. V daném případě nízké hladiny sérových protilátek anti M zaujímá komplex M—anti M jen polovinu povrchu streptokoka. Opsonizace mikroba navíc trpí poměrně nízkou afinitou C_3 k tomuto komplexu. Ve prospěch streptokoka se částečně uplatňuje antifagocytární funkce volného M proteinu. Za takových podmínek hraje i v experimentu in vitro významnou opsonizační úlohu nespecifický kofaktor, na který se po vytvoření komplexu s odpovídajícím receptorem R streptokokové stěny avidně váže koopsonin C_3 .

Poznání nespecifického principu humorální imunity nemůže zůstat bez vlivu na koncepci budoucí antistreptokokové vakcíny, která byla až dosud rozpracovávána výhradně na principu M protein—anti M protilátka.

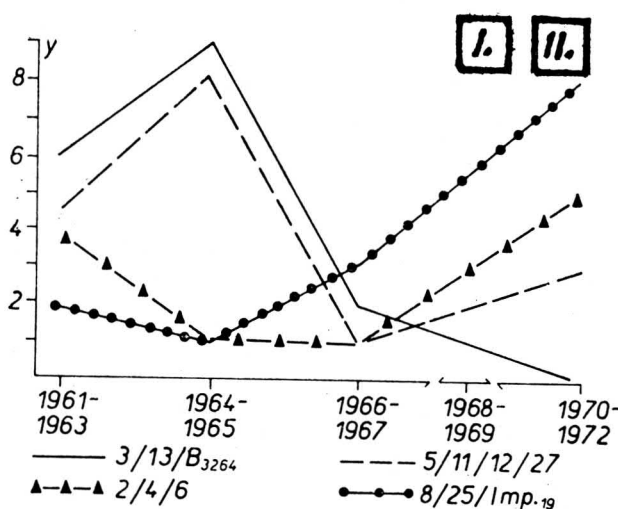
Schéma 1 Opsonizace streptokoka



- M** M protein s navázanou protilátkou anti M
- M** M protein volný
- R** Receptor nespecifického kofaktoru volný
- R** Receptor R s navázaným kofaktorem
- C₃** Složka C_3 komplementu (koopsonin)

Ve třetí etapě od roku 1968 jsme prioritně rozpracovali imunologické přehledy na poli streptokoků opřené metodicky o vlastní vysoce citlivou modifikaci opsonofagocytárního testu a o poznání podstatných odlišností mezi sbírkovými M kmeny vhodnými pro průřez a přirozenými původci epidemií, kteří byli většinou netylovatelní podle M proteinu (12). Zjištění o vysokém podílu nositelů protilátek anti M nízkého titru podpořilo představu o praktickém významu nespecifické protilátky u lidí, která významně přispívá k opsonizaci streptokoků.

Ve čtvrté etapě od roku 1971 jsme rozvinuli komplexní surveillance tým, že jsme uvedli do vztahu výsledky longitudinálního sledování frekvence a epidemiologického významu typů za 11 let s imunologickými přehledy anti M. V uvedené době jsme viděli dlouhodobé epidemické uplatnění dvou rámcových T typů (3/13 a 11/12), jejichž cyklus byl po čtyřletém období relativního klidu následován nástupem epidemických kmenů 8/25 a 4/6 (graf 1). Většina terénních epidemických kmenů nebyla typovatelná podle M proteinu. Imunologické přehledy



Graf 1. Frekvence epidemických kmenů streptokoků dle T typu za 12 let sledování

Na ose x období výskytu

Na ose y počet epidemií vyvolaných jednotlivými T typy

I. II. časová poloha imunologických přehledů anti M protilátek

ukázaly významný podíl nositelů protilátek anti M 3 (až 16 %) a anti M 12 (až 33 %) ve všeobecném vzorku zdravých vojáků [6, 12]. Většinou byly přítomny v nízkých titrech zjistitelných jen při užití citlivější modifikace baktericidního testu.

Dospěli jsme k teoretické představě, že dlouhodobá prognóza může vyplynout z globální epidemiologické dedukce opřené o longitudinální sledování epidemiologicky významných typů a o výsledky imunologických přehledů. V jejím využití vidíme jedinou cestu, jak při současném přihlédnutí k revmatogenitě a nefritogenitě typů racionálně a aktuálně naplňovat eventuální budoucí vakcínu přísně omezeným počtem M proteinových imunogenů.

Značnou experimentální pozornost jsme věnovali podstatě rezistence streptokoků v lidské krvi. Ukázalo se, že je závislá na harmonické výbavě buněčného povrchu M proteinem a nespecifickým receptorem (R) výše zmíněné protilátky (nespecifického kofaktoru) a že má vztahy k patogenitě. Materiál ze širokého výběru zbavený obvyklé selekce, vyplývající z přednostního užívání sbírkových M kmenů ve světových laboratořích, dovolil při postižení výrazných rozdílů mezi sbírkovými a terénními kmeny lépe pochopit podmíněnost patogenity streptokoků [13, 14]. Většina čerstvě izolovaných původců epidemií rostla v drobných koloniích s relativně velkou zónou betahemolýzy na rozdíl od kmenů přechovávaných ve sbírkách pro schopnost produkovat M protein i po konzervaci na umělých médiích. Takové sbírkové kmeny většinou rostou ve velkých koloniích (mukoid-matt) s relativně užší zónou hemolýzy. Většina terénních kmenů byla různou měrou vnímavá k faktorům nespecifické humorální imunity lidské krve.

V páté etapě od roku 1978 jsme narazili v sérech některých osob na cytofilní mediátor, který blokoval aktivitu mikrofágů vůči opsonizovaným streptokokům [15]. Na druhé straně pak další studium ukázalo, že exoprodukty bílých elementů pocházející od osob přecitlivělých k zymosanu stimulovaly fagocytární aktivitu a vedly v modelu opsonofagocytárního testu k bakteriostatickému efektu [16, 18]. Aktivita přítomná v albuminové frakci byla typově nespecifická a propůjčovala mikrofágům výraznější reaktivitu ve smyslu zneškodňování streptokoků označených stopami protilátek anti M. To vše nasvědčovalo uplatnění lidských mediátorů (lymfokinů) vybízejících fagocyty ke zvýšené aktivitě. Uvedené nálezy ukázaly, že může celulární imunita uplatnit protektivní rysy i vůči pyogenním streptokokům, ač jsou typickými extracelulárními parazity.

Soubor zmíněných výsledků otevřel šestou kapitolu v podobě experimentálně epidemiologické studie, jejímž hlavním předmětem bylo sledovat u 20 dobrovolníků vztahy mezi celulární přecitlivělostí a mezi námi rozpracovanými ukazateli imunologické obrany (tj. mediátory a inhibicí streptokoka v krvi). Po očkování Mannozyem (zymosan) došlo ke konverzi migračně inhibičního faktoru (MIF zym.), která byla provázena příznivou změnou ukazatelů u 4 ze 7 prvoočkovaných dobrovolníků. Průřez na počátku sledování, kinetika změn u úspěšně očkovaných i časové trendy ukazatelů během ročního pozorování nasvědčují závislosti mezi přirozenou i navozenou celulární přecitlivělostí k zymosanu a mezi inhibičním účinkem krve na úrovni bakteriostázy. Na něm se podílely zvýšená fagocytární aktivita zprostředkovaná mediátory a dále nespecifické opsoniny [17, 19].

Sledovali jsme stimulaci migrace bílých krevních elementů vůči některým mikroorganismům. Stimulace sice měla po kontaktu makroorganismu se zymosanem (Mannozyem) druhově nespecifické rysy, avšak reakce v interakci se streptokoky byly v porovnání se zvolenými modely stafylokoků a kandid daleko výraznější.

Nalezené celulární mechanismy — spolu s dříve uvedenými poznatky o spoluúčasti nespecifického principu humorální imunity — pojímáme jako bazální, širší a do značné míry stimulovatelný prostředek imunologické obrany člověka, který může vysvětlit mnohé otevřené experimentální i epidemiologické nesrovnalosti v dosavadní jednostranné interpretaci virulence streptokoků a imunity vůči nim. Ta se dosud takřka výhradně soustřeďovala na antifagocytární M protein streptokokové stěny a na jeho neutralizaci typově specifickými protilátkami anti M.

Popsané vlastní experimentální i epidemiologické zkušenosti sebrané za dlouhá léta spojením klinické, epidemiologické, bakteriologické a imunologické metody práce nás přivedly k ná-

zoru o nezbytnosti pojmout celý nespécifický princip do koncepce budoucí antistreptokokové vakcíny. Vznikly silné motivy pro uskutečnění kontrolovaných klinických pokusů s užitím vhodného nespécifického nonstreptokokového imunogenu, a to nezávisle na M proteinové náplni. Po pečlivé metodické přípravě a výběru optimálního preparátu budou při osvědčené spolupráci vojenského terénu hlavním předmětem týmového výzkumného úsilí v nejbližších letech.

Souhrn

Po vyřešení naléhavého praktického problému časné prognostiky streptokokových epidemií a volby odpovídajících racionálních opatření byly zkoumány teoretické základy imunoprolaxe. Odhalena spoluúčast typově nespécifického principu humorální imunity a rozvinuta komplexní surveillance streptokoků spojením výsledků longitudinálního sledování frekvence a epidemiologického významu typů s imunologickými přehledy anti M jako hlavními základy pro odhad M proteinové náplně eventuální vakcíny. Recentní zjištění o spoluúčasti celulární imunity potvrzené na dobrovolnících podpořilo perspektivu testování nespécifického nonstreptokokového imunogenu v kontrolovaných klinických pokusech.

Literatura

- Kahlich, R. - Franěk, J. - Fričová, O.: Rozšíření a uplatnění beta-hemolytických streptokoků v nově vzniklých kolektivech. I. Manifestní a subklinická onemocnění. Čs. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 12, 1963, č. 2, s. 81—87.
- Kahlich, R. - Franěk, J. - Fričová, O.: Rozšíření a uplatnění beta-hemolytických streptokoků v nově vzniklých kolektivech. II. Vztah mezi šířením u zdravých a uplatnění u nemocných. Čs. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 12, 1963, č. 2, s. 88—96.
- Kahlich, R.: Nález streptokoků skupiny G při alimentární epidemii angín. Čs. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 13, 1964, č. 2, s. 102—111.
- Kahlich, R. - Farník, J. - Franěk, J.: Contribution to the estimate of the epidemiological importance of Streptococci in military communities. I. Some data on the spread and pathogenic effect of Streptococci gained by the followup of the distribution of a serologically identical strain in samples of healthy and sick individuals. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 11, 1967, č. 1, s. 60—74.
- Kahlich, R.: Contribution to the estimate of the epidemiological importance of Streptococci in military communities. II. The use of manifestness and contagiousity for the evaluation of seriousness of concrete situations and for the formation of a suitable conception of antiepidemic measures. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 11, 1967, č. 2, s. 211—220.
- Kahlich, R. - Fraňková, V. - Černoch, O.: Surveillance Streptococcus pyogenes ve vojenských kolektivech. Čs. epidemiol. mikrobiol. imunol., 17, 1968, č. 4, s. 208—216.
- Kahlich, R. - Procházka, O.: Participation of nonspecific factors in the destruction of type M 12 in vitro. I. Nonspecific absorption of anti M 12 bactericidal activity. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 14, 1970, č. 1, s. 75—87.
- Kahlich, R.: Participation of nonspecific factors in the destruction of type M 12 Streptococcus in vitro. II. Indispensability of human complement and role of other factors in the bactericidal test. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 14, 1970, č. 2, s. 172—183.
- Kahlich, R.: Participation of nonspecific factors in the destruction of type M 12 streptococcus in vitro. III. A highly sensitive modification of the bactericidal test. Nonspecific cooperation requirements. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 15, 1971, č. 4, s. 375 až 388.
- Kahlich, R. - Procházka, O. - Dubanská, H.: Participation of nonspecific factors in the destruction of type M 12 Streptococcus in vitro. IV. Detailed characteristics of nonspecific cofactor and its streptococcal receptor. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 16, 1972, č. 4, s. 412—425.
- Kahlich, R. - Havlíček, J.: Antistreptolysin O — immunological surveys in epidemiological analysis. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 15, 1971, č. 3, s. 324 až 333.
- Kahlich, R. - Kotlář, V. - Skočil, V.: Complex surveillance of Streptococcus pyogenes. I. Immunological surveys of anti M antibodies and possibilities of long-term epidemiological prognosis. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 19, 1975, č. 1, s. 48—60.
- Kahlich, R. - Procházka, O. - Kartusek, S.: Complex surveillance of Streptococcus pyogenes. II. Resistance in human blood and bactericidal activity receptors of field and collection Streptococci. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 19, 1975, č. 2, s. 207—216.
- Kahlich, R.: Complex surveillance of Streptococcus pyogenes. III. Immunological characteristics of streptococcal resistance in blood and new aspects of type nonspecific protection. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 20, 1976, č. 1, s. 61—75.
- Kahlich, R. - Procházka, O. - Švec, M.: Complex surveillance of Streptococcus pyogenes. IV. The phenomenon of interference of human serum under the conditions of the bactericidal test. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 22, 1978, č. 3, s. 294—305.
- Kahlich, R. - Procházka, O. - Švec, M.: Účast nespécifické humorální a celulární imunity v obraně člověka vůči pyogenním streptokokům. In: Nespécifická a specifická imunita a jejich vztah při infekcích. Sborník z konference imunologů ve Valticích, 1980, s. 48—50.
- Kahlich, R. - Švec, M. - Procházka, O.: Navození nespécifické antistreptokokové imunity u dobrovolníků zymosanem. In: Nespécifická a specifická imunita a jejich vztah při infekcích. Sborník z konference imunologů ve Valticích 1980, s. 206—208.
- Kahlich, R. - Procházka, O. - Švec, M.: Complex surveillance of Streptococcus pyogenes. V. Protective features of cell-mediated immunity against group A Streptococci. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 26, 1982, č. 4, s. 396—404.
- Kahlich, R. - Švec, M. - Procházka, O.: Complex surveillance of Streptococcus pyogenes. VI. Relationship between hypersensitivity to zymosan and indicators of immunity against group A Streptococci. J. of Hyg. Epid. Microbiol. Immunol., 27, 1983, č. 2, s. 219—228.

Klíčová slova: Epidemiologická prognostika; Komplexní surveillance streptokoků; Frekvence a epidemiologický význam typů; Imunologické přehledy anti M; Nespécifická humorální a celulární imunita; Antistreptokoková vakcína.

Poznámka: Předneseno na vědecké konferenci k 25. výročí založení VÚHEM v září 1982.