

616.34-002-02-036.22

PROBLÉMY ETIOLOGICKÉHO PRŮKAZU PODMÍNĚNÝCH PATOGENŮ VE STŘEVNÍCH EPIDEMIÍCH

Plk. MUDr. R. KAHLICH, DrSc., MUDr. A. PALEČEK, CSc., npor. MUDr. L. MANKOVECKÝ, MUDr. A. SEICHERTOVÁ,
Plk. MUDr. V. HRONOVSKÝ, CSc.

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

Pplk. MUDr. V. SKOČIL

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

MUDr. B. KORYCH, CSc.

Ústav pro lékařskou mikrobiologii a imunologii UK Praha
(přednosta: doc. MUDr. C. John, CSc.)

doc. MUDr. L. DANEŠ, DrSc.

Institut hygieny a epidemiologie Praha
(ředitel: akademik B. Rosický)

Plk. MUDr. L. ŠPRINCL, DrSc.

Patologicko-anatomické oddělení Ústřední vojenské nemocnice Praha
(náčelník: plk. MUDr. L. Šprincl, DrSc.)

RNDr. R. BLÁHA

Bakteriologické oddělení Krajské hygienické stanice Středočeského kraje
(přednosta: RNDr. R. Bláha)

V předchozích sděleních jsme informovali o výzkumných záměrech podnícených zvláště soudobé epidemiologie střevních nákaz. Po vytypování řady kandidátů na původce soudobých střevních nákaz (9) jsme rozpracovali širší bázi speciálních laboratorních metodik pro záchyt nových nebo dosud málo diagnostikovaných agens (14), vymykajících se těsným hraničním přežívajícího stereotypu salmonela-shigela.

Za poměrně krátké období týmové součinnosti se již vžila a značně pokročila organizačně metodická doktrína pro komplexní analýzu a byly získány první povzbudivé výsledky.

Tak byl např. nedávno nalezen původce nozokomiální alimentární epidemie v enterotoxigenním kmeni *Enterobacter cloacae* při vyloučení účasti široké palety mikrobů i enteropatogenních virů (11). Největším překvapením však bylo, že jsme přistihli i v podmínkách ČSSR mikroba *Campylobacter jejuni* při sporadickém a epidemickém uplatnění. Odezva aglutinačních protilátek odhalila jeho účast i u rekonvalescentů po nevyjasněných febrilních enteritidách (13).

V předloženém sdělení chceme dokumentovat oprávněnost nových přístupů popisem dvou zajímavých epidemií, jejichž etiologické objasnění se neobešlo vzdor komplexnímu přístupu k analýze bez problémů.

Použité metodiky

Při zaměření na širší okruh agens jsme využili vedle klasických kultivačních postupů selektivní Chapmanův agar pro event. záchyt enterotoxigenního stafylokoka a krevní agar s diskem polymyxinu B pro *Bacillus cereus*. Pro

Yersinia enterocolitica jsme volili speciální postupy včetně opracování KOH (20, 1). Jako materiál pro anaerobní a mikroaerofilní kultivaci sloužily vzorky nativní stolice (15). Selektivní kultivace *kampylobakterů* je popsána jinde (10), kultivaci *Clostridium perfringens* (18) jsme modifikovali v odsátých zavařovacích sklenicích s pyrogallolem po předplnění CO₂. K bližší diferenciaci jsme užívali reverzní CAMP test (8).

Kmenová individua *E. coli* jsme vyhledávali v laktóza-pozitivním porostu s užitím biotypu (12) a vyšetřovali jsme je na produkci enterotoxinů. Preparáty pro vyhledávání cyst *Giardia intestinalis* byly připravovány nezkrácenou Faustovou flotační metodou (5).

Invazivitu jsme vyšetřovali Serenyho testem (10), ve vzorcích nativní stolice barvené podle Giemsy jsme mikroskopicky vyhledávali leukocyty (7) — koproleukogram.

Sérotypizaci citrobakterů podle O-antigenů jsme prováděli komerčními séry ÚSOL Praha. Protilátky v rekonvalescentních sérech byly sledovány přímou aglutinací a pasívní hemaglutinací.

Enterotoxigenitu kmenů jsme testovali v modelu izolované kličky králíčího jejunu (3), na sajících myškách (6) a v králíčím testu VPF (vaskulární permeabilitní faktor po intradermální aplikaci lyzátu) (4). Další toxická aktivita byla sledována na buněčných kulturách Vero (17).

V intradermálním králíčím testu jsme aplikovali po depilaci 0,7 ml suspenze zkoumaného kmene do vzniku pupence o průměru 1 cm a výšce 0,5 cm. V jednom přístupu šlo o živou, 18hodinovou bujónovou kulturu s odečítáním výsledků druhého dne a se zánětlivým infiltrá-

tem v případě positivity. Ve druhém přístupu pak o Schwartzmanovu reakci, kdy následovala po i. d. vpichu povazeň kultury druhého dne i. v. aplikace téhož materiálu v množství asi 7 ml. Výsledky (hemorrhagická nekróza v případě positivity) byly odečítány po několika hodinách.

K průkazu nekultivovatelných enteropatogenních virů byla použita technika imunoelektronové mikroskopie s vyhledáváním imunokomplexů po konjugaci extraktů stolic s rekonvalescentními séry. Na přítomnost protilátek k rotavirům byla rekonvalescentní séra vyšetřována nepřímou imunofluorescenční technikou, a to na systému buněk infikovaných bovinním kmenem Lincoln. Protilátky k adenovirům byly testovány komplement-fixační technikou s použitím skupinového adenovirového antigenu. Pro vyšetření neutralizačních protilátek vůči adenovirům bylo použito 6 antigenů Cocksackie A i B a 17 antigenů ECHO (2).

Výsledky

Epidemie v posádce P

Od 18. hodiny dne 11. ledna 1983 do 4. hodiny ranní dne 12. ledna onemocnělo v areálu kasáren P celkem 75 vojáků s převládajícím obrazem lehké afebrilní nebo subfebrilní enteritidy. Nejvíce byla postižena jednotka 88 nováčků, z nichž onemocnělo 49 (tj. asi 56 %). U ostatních 8 jednotek o celkovém počtu 422 osob bylo při zhruba rovnoměrném rozložení jen 17 onemocnělých (tj. asi 6 %).

Klinický obraz byl charakterizován křečemi v břiše (spíše v podbřišku), 4–6 vodnatými průjmy, asi u 20 % byla zvýšená teplota [jen dvakrát přes 38 °C]. Zvracení a nauzea byly zcela ojedinělé. Po léčbě čajovou dietou a Carbosorbem následovala rychlá rekonvalescence (nejpozději do 48 hodin).

Všechny jednotky se stravovaly ze společné kuchyně nevalné hygienické úrovně, kde docházelo k prohřeškům ve skladování potravin a v technických postupech spojených s přípravou a přechováváním stravy. Úzká variační šíře časového přírůstku nemocných v rozmezí 10 hodin, s maximem mezi 21. a 24. hodinou, svědčila pro alimentární mechanismus s krátkou inkubační dobou v hodinách, která nejspíše odpovídala haši z masové konzervy podávané ke snídani 11. ledna. Obdobná inkubační doba vyšla z analýzy přesně známého intervalového přírůstku nemocných v alimentární epidemii (viz úvod, 11) charakterizované srovnatelnou variační šíří a normálním rozložením incidence. Pokud jde o výklad nápadně vysoké nemocnosti v jednotce nováčků, byla jediným odlišujícím znakem skutečnost, že tato skupina nastupovala do jídelny vždy první v pořadí a mohla náhodně požit nejvíce kontaminovanou porci připraveného pokrmu.

Mikrobiologické vyšetření. U 53 z počtu 58

pacientů byly při rutinním vyšetření zachyceny laktóza-positivní nebo laktóza-negativní citrobaktery typických biochemických znaků (například KCN⁺, mannit⁺, citrát⁺, indol⁻, gelatina⁻). Často převládaly v primokultuře uprostřed běžné flóry *E. coli*. Na VÚHEM zasláno 12 laktóza-negativních kmenů k sérologickému určení a 10 vzorků nativní stolice, z nichž byly 8krát izolovány citrobaktery, z toho 4krát takřka v čisté kultuře. Sérotypizací bylo podrobeno celkem 20 kmenů, z toho určeno 11 jako typ 013 (laktóza-negativní), 5 jako 034 (laktóza-positivní), 4 laktóza-positivní byly netypovatelné. U žádného kmene nebyl nalezen Vi antigen.

Na otázku event. přetrvávání citrobakterů nalezených u nemocných jsme dostali překvapivou odpověď. Ze 17 vzorků stolice od rekonvalescentů obsahovalo citrobaktery 11, vesměs však šlo o NT kmene, laktóza + biotyp. Všechny zůstaly netypovatelné i po povazeň stejně jako NT kmene od nemocných.

Záchyt citrobakterů od vysokého podílu nemocných nemohl sám o sobě stačit jako důkaz jejich etiologické úlohy. Přistoupili jsme proto k dalšímu mikrobiologickému vyšetřování a biologickému testování.

Negativní koproleukogram ze všech 10 vzorků nativní stolice svědčil proti invazivitě agens stejně jako negativní Serenyho test po aplikaci všech tří sérologicky odlišných citrobakterů.

Jedenáct těchto kmenů bylo vyšetřeno na enterotoxigenitu s použitím všech tří testů (viz metody) — vesměs s negativním výsledkem. Negativní byl též test v buněčné kultuře Vero. Uvedené výsledky byly potvrzeny ve VÚPL Bratislava (doc. MUDr. J. Karolček, DrSc.).

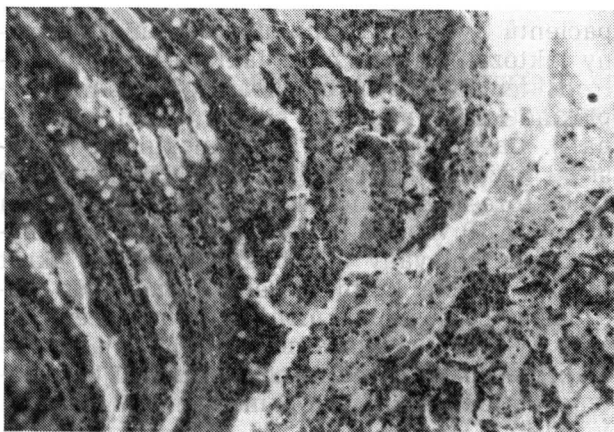
Vyšetření 10 dvojic sér v aglutinační reakci a 6 dvojic v hemaglutinačním testu nijak nepřispělo, pouze ve 4 případech zjištěn nonsignifikanční vzestup do ředění 1 : 2.

Po nočním působení živé kultury 8 typovatelných kmenů od nemocných v izolované střevní kličce králíka byly zjištěny na rozdíl od netypovatelných kontrol drobné slizniční povrchové nekrózy, aniž došlo ke zmnožení střevního obsahu (obr. 1).

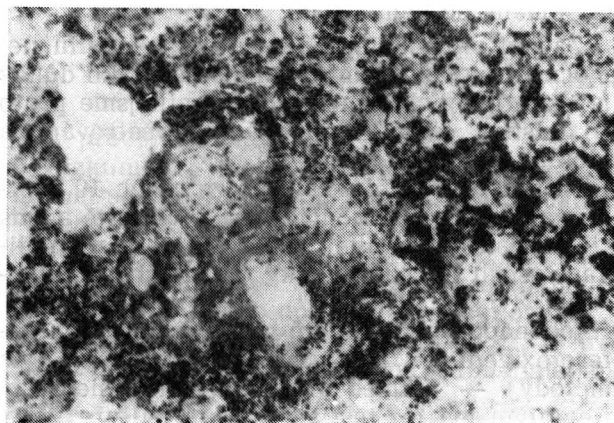
V intradermálním testu bylo vyšetřeno 11 kmenů od nemocných a 8 kmenů od rekonvalescentů (tab. 1). Jak vyplývá z tab. 1, došlo u naprosté většiny typovatelných kmenů od nemocných na rozdíl od NT kmenů od nemocných a rekonvalescentů k výrazné zánětlivé infiltraci s histologickým obrazem hlubokých kožních nekros (obr. 2). V analogickém smyslu byla též pozitivní Schwartzmanova reakce. Výsledky byly reprodukovatelné včetně jedné výjimky typovatelného a NT kmene.

Pokud jde o laktóza-positivní *E. coli*, převážoval u části nemocných biotyp 0, u jiných pak biotyp 2, oba však byly v testech na enterotoxigenitu negativní. Nebyly nalezeny cysty giardií.

Při užití 6 extraktů stolic od typicky nemoc-



Obr. 1. Střevní sliznice má normální strukturu, jen v ojedinelých úsecích jsou její povrchní části nekrotické. Lumen je vyplněn buněčným detritem s leukocytární příměsí. Chybí zánětlivá infiltrace stěny.
Barveno hematoxylinem a eosinem.
(Zvětšení na negativu 40krát)



Obr. 2. V excizích kůže a podkoží jsou v hlubokém koriu ložiska nekrózy obklopena plášťovitým lemem z polymorfonukleárních leukocytů.
Barveno hematoxylinem a eosinem.
(Zvětšení na negativu 40krát)

Tab. 1

Intradermální králíčí testy

Původ a typovatelnost	Celkem kmenů	Schwartzm. reakce ^{*)}	Zánětlivý in-filtrát ^{*)}
Typova- telné	8	7	7
Nemocní NT	3	1	1
Rekon- vales. NT	8	0	0

Poznámka: ^{*)} považená kultura ^{*)} živá kultura

ných v konjugaci s rekonvalescentními séry nebyly nalezeny při imunoelektronoptickém vyšetření žádné komplexy virů o rozměru 27 nm (Norwalk), protilátky k rotavirům byly negativní.

Diskuse k epidemii P

Pro závěry o etiologickém uplatnění citrobakterů svědčí především nález u naprosté většiny nemocných s časovým ohraničením obou sérotypů na období akutního onemocnění, obraz prchavé enteritidy při nedostatku invazivity a toxigenity kmenů a konečně výsledky intradermálního testu a nález drobných nektróz střevní sliznice po aplikaci živé kultury do uzavřené králíčí kličky. Při nerušené nebo dokonce urychlené pasáži střevem lze přirozeně čekat daleko menší poškození. Nepřímou podporu účasti citrobakterů v epidemii P spatřujeme v negativních nálezech agens z palety širší diagnostiky včetně enteropatogenních virů.

Proti uvedeným závěrům nesvědčí ani nález 2–3 odlišných sérotypů u nemocných. Předpokládáme, že v mnohotné kontaminovaném vehikulu nákazy dominovaly biologicky aktivní kmeny 013 a 034. Inaktivní NT kmeny byly zachyceny u některých nemocných (tab. 1) jen díky pořizování několika izolátů včetně laktóza-pozitivních a nabyly vrchu pravděpodobně teprve během rekonvalescence.

K intradermálním testům jsme sáhli vzhledem k obecně známému významu endotoxinu pro virulenci. Negativitu NT citrobakterů ve Schwartzmanově reakci předběžně vykládáme jako defekt ve skladbě endotoxinu nebo překrytí jeho aktivity ve větším strukturálním komplexu. Při užití živé kultury lze předpokládat uplatnění dalších faktorů virulence. Škoda, že nás tyto testy nenapadly již dříve během studia etiologické role citrobakterů izolovaných u sporadicky nemocných osob ve srovnání se zdravými (16).

Popsané fenomény se nabízejí k širšímu ověření s důrazem na kmeny přesně definovaného původu. Dosavadní pokusy naznačily, že mohou být i některé kmeny *E. coli*, proteů, enterobakterů a pseudomonád v uvedených reakcích negativní.

Nedostatek odezvy protilátek k našim citrobakterům napovídá, že bude přímá aglutinace rekonvalescentními séry zřejmě malou pomocí při objasňování etiologie lehkých onemocnění s krátkým průběhem. Vidíme to i při sledování jiných střevních podmíněných patogenů.

Popsaná příhoda v posádce P nám připomněla starší epidemii ML z roku 1981, ve které byly u různých nemocných tři biochemické varianty citrobakterů. Tehdy jsme v rozpacích inklinovali k výkladu, že jde o dysmikrobii. Dnes tento pohled korigujeme tím spíše, že tam byly citrobaketry také nalezeny u naprosté většiny nemocných hned ve stadiu akutních příznaků a virologické vyšetření vyznělo negativně.

Pozoruhodné zjištění v epidemii P o vystřídání etiologických sérotypů NT kmeny v rekonvalescenci nás vedlo k experimentu, ve kterém jsme užili na metodickém modelu bakteriocinů v roli donora NT kmeny, v roli recipientů pak typovatelné kmeny od nemocných. Viděli jsme ve většině případů inhibici růstu, při opačném

uspořádání však nikoli. Do dalších podrobností jsme nezacházeli, zůstává však výrazná motivace pro přímé zaměření na takové jevy v budoucích epidemiích.

Epidemie v posádce R

Od 9. 8. 1982 do 12. 8. 1982 onemocnělo celkem 42 vojáků z celkového počtu asi 1000 příslušníků útvaru s převážujícím klinickým obrazem febrilní gastroenteritidy kombinované v 65 % případů s angínou. Časová křivka incidence onemocnění svědčila pro alimentární přenos bez podstatného uplatnění kontaktů. Retrospektivní epidemiologické pátrání po zdrojích a vehikulu nákazy bylo ve složitých podmínkách bezvýsledné, v podstatě bylo možno vyloučit podezřelý vodní hydrant i obligátně konzumované pokrmy.

Klinicky začínalo onemocnění náhle křečovitými bolestmi břicha bez tenesmů a následovala prudká subfebrilní až febrilní gastroenteritida se 4 a 7 kašovitými až vodnatými, silně páchnoucími stolicemi šedohnědé barvy. Byla nápadná celková alternace s myalgií. Případy s čistou gastroenteritidou byly febrilní v 50 %, při kombinovaném obraze pak v 95 %. Na mandlích byly rozředlé, nejasně ohraničené čepy s výjimečnou celkovou zánětlivou reakcí v hrdle. Tato lehká tonzilitida, nepodobná streptokokové, nebyla většinou subjektivně pocíťována, pacienti přiváděly na ošetřovnu příznaky gastroenteritidy. Chyběly polykací potíže, uzliny nebyly zvětšeny, jen u některých bylo hrdlo citlivé na hlubokou palpaci.

Při běžné antipyretické léčbě a aplikaci Carbocitu a Ftalazolu ustoupily příznaky do 3 dnů. Nemocní s průvodní angínou dostali též penicilín. Hodnoty krevního obrazu a sedimentace erytrocytů nepřispěly k diagnostické rozvaze.

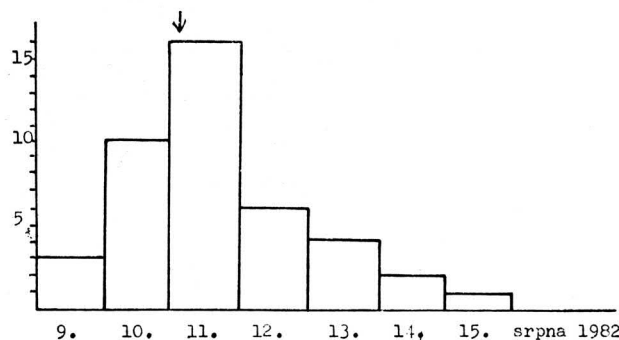
Mikrobiologické vyšetření. Ke kultivačnímu vyšetření bylo zasláno dne 11. 8. celkem 13 výtěrů z tonzil, odebraných před nasazením penicilínu a dále 15 výtěrů z rekta (na DC tampónech) a 11 vzorků nativní stolice před nasazením nespecifické léčby. Párová séra k sérologickému a virologickému vyšetření odebrána dne 12. 8. (15 sér) a 26. a 29. 8. (18 sér).

Ve výtěrech z krku nebyly nalezeny beta hemolytické streptokoky. Kultivační postupy podle schématu širší diagnostiky byly vesměs negativní s výjimkou anaerobního vyšetření 11 vzorků nativní stolice. V 10 případech bylo totiž vykultivováno *Clostridium perfringens* v růstovém titru 10^5 – 10^7 kolonií na ml stolice. Kmeny měly typické vlastnosti (mikroskopický vzhled, charakteristiky na pestré řadě), pozitivní byl i reverzní CAMP test. Suspenze živého ani po vařeného kmene nebyla aglutinována rekonvalescentními séry.

Zjištění, že v primokulturách nepřevládá žádný biotyp laktóza + *E. coli*, nás zbavilo motivace pro vyšetřování enterotoxigenity. Nebyly nalezeny cysty giardií. Koproleukogram byl vesměs negativní.

Graf 1 Epidemie v posádce R

Počet
nemocných



↓ odběr materiálů

Vzhledem ke klinickému syndromu připomínajícímu obraz při epidemiích virem Norwalk byla věnována mimořádná péče virologickému vyšetření. Výsledky imunoelektronoptického vyšetření konjugátů rekonvalescentních sér s extrakty nativní stolice od nemocných však nezachytilo ani komplexy částic o rozměru 27 nm ani rotaviry. Nedostatek signifikantního vzestupu protilátek vůči skupinovému adenovirovému antigenu nepřispěl k objasnění střevních ani krčních projevů nemoci. Podrobné sérologické vyšetření neutralizačním testem vyloučilo účast řady enterovirů.

Diskuse k epidemii R

Vzdor impresivnímu nálezu ve stolici jsme v prvním přiblížení vážně zapochybovali nad etiologickou účastí klostridií hlavně pro netypickou incidenci rozloženou do příliš dlouhé doby nejméně 4 dnů. Rozpaky byly navíc posíleny průměrně třídním a navíc febrilním průběhem, který není při klostridioze obvyklý. Citelný byl nedostatek vzorků inkriminované potravy, ve které by bylo žádoucí agens zastihnout. Negativní rekonvalescentní protilátky nebyly vážným argumentem proti etiologické úloze klostridií.

Po zhodnocení všech výsledků se nabízí teoretický výklad připouštějící souhru atypických epidemiologických okolností s event. účastí dvou agens obsažených v témže vehikulu přenosu. Jsme nakloněni přijmout představu o uplatnění klostridií na střevní symptomatologii vzhledem k frekvenci nálezů u nemocných a vysokému růstovému titru. V takovém případě by bylo možno chápat netypickou incidenci nemocných tak, že se kontaminované vehikulum uplatnilo jen u menší části jednotky a bylo konzumenty odčerpáváno postupně v rozmezí 3 až 4 dnů. Avšak přibližně normální rozložení s maximem nemocných v rozmezí 3 dnů nevylučuje, že zůstalo vzdor komplexnímu přístupu neodhalené další, nejspíše virové agens, jehož účast by byl vysvětlen i febrilní průběh a klinicky nevýrazná nonbakteriální tonzilitida. Navíc by

la teplota dvakrát častější u kombinovaného obrazu (viz výsledky) než u prosté gastroenteritidy, která by odpovídala samostatnému uplatnění klostridií. I když teoreticky nevylučujeme možnost šíření původce průvodné tonzilitidy kapénkovým mechanismem, svědčila by pro alimentární způsob přenosu skutečnost, že nebyly ve vlně hromadného výskytu žádné případy samostatné angíny bez průjmu.

Výklad, že by mohly nálezy klostridií odpovídat sekundární dysmikrobii, se zdá nepravděpodobný již pro samotnou časovou souhru nálezů s obdobím časných příznaků u většiny nemocných. Navíc bychom se s takovým jevem setkávali v rámci komplexnějšího vyšetřování epidemií jistě mnohem častěji.

Závěrečná diskuse

Na prezentovaných materiálech jsme především chtěli ukázat, že lze pokroky při studiu soudobé epidemiologie střevních nákaz čekat jen při komplexním přístupu a cílevědomé týmové spolupráci. I tak ovšem napověděl případ epidemie R, že se mnohdy ocitneme vzdor vynaloženému úsilí před vážnými interpretačními rozpaky nad složitostí či utajenou podstatou hromadného onemocnění a že zřejmě není u konce hledání speciálních postupů pro zachyt dalších agens.

Dosavadní zkušenosti však opravňují k optimismu nejen proto, že se již užívá nová koncepce širší diagnostiky a zdůrazňuje včasná signalizace i cílený sběr materiálu, ale i v tom smyslu, že řada nových poznatků přechází plynuce do praxe.

V současné době je k dispozici pokročilá metodická i organizační doktrína v podobě směrnice pro týmovou spolupráci a schopný řešitelský tým připravený sebrat reprezentativní materiál o epidemiologických i klinických zvláštěnostech soudobých střevních nákaz. Za předpokladu družné spolupráce kliniků, mikrobiologů a epidemiologů lze doufat, že budou noví nebo dosud nediagnostikovaní původci stále častěji zachycováni a že budou rychleji přibývat podklady pro racionální prevenci, represí i léčbu onemocnění jimi vyvolávaných.

Souhrn

V explozivní epidemii subfebrilní enteritidy byly nalezeny u naprosté většiny nemocných dva odlišné séro- a biotypy citrobakterů. Nebyly enterotoxigenní ani invazivní, vyvolávaly

však na rozdíl od netypovatelných kmenů z rekonvalescence patologické změny v kůži a na střevní sliznici králíků. V další epidemii (gastroenteritis febrilis) provázené v 65 % lehkou angínou zůstaly vzdor komplexnímu rozboru etiologické rozpaky, přestože bylo izolováno ze stolice 10 z 11 nemocných *Clostridium perfringens* ve vysokém růstovém titru. Předpokládá se spoluúčast dalšího nepoznaného agens, nejspíše viru. V obou epidemiích byli vyloučeni původci sledovaní na laboratorní bázi širší diagnostiky. Nové poznatky o uplatňování dosud málo diagnostikovaných agens se neobejdou bez komplexního klinicko-epidemiologického a mikrobiologického přístupu a cílevědomé týmové spolupráce.

Literatura

1. Aldová, E.: Bull. čs. Spol. Mikrobiol. ČSAV, 19, 1978, č. 4, s. 11.
2. Daneš, L. - Koza, J. - Matyášová, I. a další: Příloha Acta Hyg. Epid., IHE Praha, 1983. V tisku.
3. De, S. N.: J. Path. Bact., 71, 1956, s. 201.
4. Evans, D. G. - Evans, D. J. - Gorbach, S. L.: Infect. Immun., 8, 1973, s. 731.
5. Faust, E. C. - Sawitz, V. - Tobie, J. a další: J. Parasitol., 25, 1939, s. 241.
6. Gianella, R. A.: Infect. Immun., 14, 1976, s. 95.
7. Hansen, M. V. - Eliot, L. P.: J. Clin. Microbiol., 12, 1980, č. 4, s. 617.
8. Harris, J. C. - Dupont, H. L. - Hornick, R. B.: Ann. Intern. Med., 76, 1972, s. 697.
9. Kahlich, R. - Caha, J.: Inf. zpravodaj VLIS, 19, 1978, s. 51.
10. Kahlich, R. - Paleček, A. - Paroubek, M. a další: Bull. čs. Spol. mikrobiol. ČSAV, 22, 1981, č. 6, s. 7.
11. Kahlich, R. - Paleček, A. - Korych, B. a další: Voj. zdrav. Listy, 51, 1982, č. 5, s. 260.
12. Kahlich, R. - Nemec, A. - Caha, J. a další: Voj. zdrav. listy, 51, 1982, č. 3, s. 108.
13. Kahlich, R. - Kotlář, V. - Paleček, A. a další: Čas. Lék. čes., 121, 1982, č. 47, s. 1452.
14. Kahlich, R. - Paleček, A.: Inf. zpravodaj VLIS, 1983. V tisku.
15. Kahlich, R.: Voj. zdrav. Listy, 51, 1982, č. 4, s. 200.
16. Kahlich, R. - Weberschinke, J.: Čs. Epid. Mikrobiol. Immunol., 12, 1963, č. 1, s. 55.
17. Korych, B. - Souček, A. - Bláha, R.: [Závěrečná zpráva o výzkumu VII-7-1 E 03.] Praha, 1982.
18. Neubauer, M.: Střevní onemocnění člověka, vyvolaná *Clostridium perfringens*. Praha, Avicenum 1976.
19. Serény, B.: Acta Acad. Microbiol. Sci. Hung., 5, 1957, s. 367.
20. Weissfeld, A. S. - Sonnenwirth, A. C.: J. Clin. Microbiol., 15, 1982, č. 3, s. 508.

Klíčová slova: Širší diagnostika; *Citrobacter*; *Clostridium perfringens*.