

615.371:616.21-022.14:576.851.214

PERSPEKTIVY ANTISTREPTOKOKOVÉ VAKCÍNY

Plk. MUDr. Richard KAHLICH, DrSc.

Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha

(náčelník: plk. MUDr. V. Kotlář, CSc.)

Streptokokové nákazy dýchacích cest představují trvale výraznou položku ve sporadické infekční nemocnosti vojsk. Virulentní kmeny

Streptococcus pyogenes navíc vyvolávají každoročně desítky menších či větších lokálních epidemií a mají při uplatnění momentu překva-

pení charakter mimořádných událostí. Kmeny s vysokou klinickou manifestností a kontagiozitou jsou s to ochromit na několik dní bojeschopnost útvaru a ohrozit vnímavé osoby — včetně asymptomaticky infikovaných — vznikem pozdních následků — hlavně revmatickou horečkou a glomerulonefritidou.

Nelze snad ani docenit skutečnost, že streptokoky skupiny A, které jsou rozhodujícími původci angíny, zůstávají až dosud trvale vnímavými k léčbě penicilínem, která současně chrání před vznikem pozdních následků. Od šedesátých let jej diferencovaně využíváme k racionální profylaxi poté, co jsme poznali zákonitosti šíření a patogenního uplatnění streptokoka v kolektivu a predikujeme výsledek epidemie podle Směrnic pro činnost zdravotnické služby při zvýšeném výskytu angín (Zdrav-1-1).

Uvedené příznivé okolnosti však nelze do budoucna absolutizovat nejen pro nejistou prognózu trvalé účinnosti antibiotik (včetně alternativního erythromycinu), ale též pro narůstající alergizaci populace, ohrožující hlavně dispenzarizované osoby trpící nebo ohrožené revmatismem, srdeční vadou a glomerulonefritidou. Vedle toho bychom i v kolektivech zdravých lidí rádi dokázali víc, než pouze potlačovat již vznikající epidemie. V tomto smyslu ovšem stojíme před paradoxem, že na rozdíl od úspěšné represe zůstává imunoprofylaxe zatím jen kýženou metou. Přesto považujeme za užitečné podat v tomto sdělení přehled o současném stavu problematiky, ukázat na její věcnou i metodickou složitost a v neposlední řadě vyzdvihnout význam komplexního, tj. klinického, bakteriologického, imunologického a epidemiologického přístupu, o který se sami na vlastní cestě k tomuto cíli pokoušíme.

Pokud jde o základní koncepční přístup k vakcíně, je třeba předeslat, že vychází celosvětově z názoru o zásadním významu typové specifických opsonizačních protilátek namířených proti antifagocytárnímu M proteinu, uloženému na povrchu streptokokové stěny. Se značným zpožděním — od šedesátých let — bylo zahájeno studium nespecifických imunitních faktorů na našem pracovišti a brzy se objevovaly další nálezy na tomto poli i z jiných laboratoří. Recentně jsou pak sledovány faktory adherence streptokoka na sliznice dýchacích cest (hlavně Beachey et al. 1981) se zřejmým úmyslem dospět k antiadherenčnímu principu vakcinace.

V dalším se pokusíme nastínit chronologický sled studií zaměřených na M proteinovou vakcínu a na nespecifický princip imunizace.

Problematika je velmi komplexní a má řadu dílčích problémů, z nichž je vlastně každý relativně samostatným výzkumným úkolem — od molekulárně biochemických až po širší klinické a epidemiologické aspekty. Koordinace práce několika málo laboratoří ve světě, které se vakcínou zabývají, není pohříchu ideální a výsledky nesou až příliš zřejmé známky užších

speciálních zájmů a dosažené metodické úrovně. Navíc mnozí toto výzkumné pole postupně opouštějí.

Ve skeptickém ovzduší kolem roku 1967 doporučil Stollerman problematiku vakcíny naléhavě do rukou nejnadanějších badatelů a vytyčil těchto pět hlavních bodů, které jsou stále aktuální:

1. vypořádat se s komplikacemi, které vyplývají z existence mnoha sérotypů (dnes je jich deklarováno již přes 80) uplatňujících typovou specifitu protektivního efektu. V běžné populaci je podle M proteinu typovatelných jen 50–60 % patogenních kmenů;
2. zajistit vysokou purifikaci a antigenicitu M proteinového preparátu;
3. spolehlivě měřit specifické protektivní protilátky;
4. zabránit toxickým reakcím a alergizaci;
5. nedopustit uplatnění zkřížených protilátek namířených k antigenům lidské tkáně (hlavně myokardu a ledvinám). Sami jsme tehdy viděli další otázky jako
6. odvozený problém dlouhodobé epidemiologické prognózy typů v populaci;
7. vliv vlastních poznatků o odlišném charakteru většiny čerstvě izolovaných terénních původců hromadných onemocnění ve srovnání se sbírkovými producenty M proteinu užívanými ve světě pro imunologické studie;
8. otázku detailnějšího poznání mechanismu baktericidie streptokoka v lidské krvi.

Poznatky, kterými jsme v první fázi sami přispěli k bodům 1, 3, 6 a 7, vkládáme do následujícího výkladu o vývoji M proteinové vakcíny.

V jemnější epidemiologické transformaci zní první Stollermanův bod raději takto: vakcína musí být zaměřena proti kmenům, které budou mít v uvažovaném období skutečný epidemiologický význam. V naší koncepci lze epidemiologický význam typu přesněji charakterizovat manifestností a kontagiozitou, které však mohou vzhledem k výrazně podmíněné patogenitě streptokoků kolísat stejně jako nemocnost, která se pohybuje v epidemiích od 5 do 50 % i více (Kahlich 1967).

Přes tyto výhrady bylo třeba usilovat o surveillance streptokoků, ke které jsme přikročili v roce 1971. V systematických terénních studiích jsme uvedli do vztahu výsledky longitudinálního sledování frekvence a epidemiologického významu T typů (1968) za 11 let s imunologickými přehledy anti-M provedenými prioritně v podmínkách ČSLA (Kahlich 1975).

V uvedené době jsme viděli dlouhodobé epidemiické uplatnění dvou rámcových T typů (3/13 a 11/12), jejichž cyklus byl po čtyřletém období relativního klidu následován nástupem epidemiických typů 8/25 a 4/6. Naprostá většina terénních epidemiických kmenů nebyla typova-

telná podle M proteinu, imunologické přehledy ukázaly významný podíl protilátek anti-M 3 (až 16 %) a anti-M 12 (až 33 %) ve všeobecném vzorku zdravých vojáků. 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 užití vidíme jedinou cestu, jak při současném přihlídnutí k revmatogenitě a nefritogenitě typů racionálně a aktuálně naplňovat eventuální budoucí vakcínu přísně omezeným počtem M proteinových imunogenů.

Pokusy připravit účinné preparáty M proteinu, které by vedly k produkci protektivních a dostatečně dlouho přetrvávajících protilátek anti-M a byly přitom prosty škodlivých příměsí (viz Stollermanovy body 2–5) se datují od roku 1960. Preparáty byly postupně testovány na králících a na lidských dobrovolnících a příslušné práce jsou spojeny s průkopnickými jmény Kantor, Schmidt, Stollerman, Potter, Wolfe, Brighton, Michael, Masselaj. Od roku 1966 však zcela dominuje významná iniciativa E. N. Foxe. V první práci (1966) viděl po aplikaci chromatograficky purifikovaného M proteinu vzestup titru hemaglutinačních protilátek. Šlo však převážně o „booster“ efekt. Nebyla zkřížena reaktivita s ledvinovou tkání a — jak bylo sděleno později v r. 1969 — ani se srdeční tkání. V roce 1969 referuje, že u 60 % dětí očkovaných „primárně“ M proteinem adsorbovaným na aluminiumhydroxid se objevily typově specifické protilátky. Jejich protektivní účinek prokázal v modelu tzv. baktericidního testu, jemuž přiznal prioritu před orientační a méně specifickou hemaglutinační technikou. Nebyly lokální ani systémové reakce.

V roce 1972 očkovali dobrovolníky 3 dávkami vakcíny obsahující M protein typu 1. Rozdíl proti kontrolám nebyly signifikantní.

Z další práce, která následovala v r. 1973 v uspořádání dvojitého slepého testu, vyplynulo, že při užití téhož typu 1 onemocnělo 9 z 19 kontrol, zatímco z 19 imunizovaných pouze jediný. Úloha protilátek zůstala ovšem nejasná, protože jen 5 z 19 vytvořilo anti-M protilátky a ty nebyly asociovány s ochranou před onemocněním.

Polly, Fox et al. (1975) aplikovali v uspořádání dvojitého slepého pokusu purifikovaný M protein typu 1 cestou aerosolu intranazálně a intrafaryngeálně. Po zátěži homologním streptokokem viděli signifikantní rozdíl v počtu očkovaných a kontrol, kteří zůstali ušetřeni nákazy a kolonizace, u kultivačně pozitivních vakcinace nechránila před onemocněním. V séru nenalezli anti-M protilátky, nebyla asociace mezi protekcí a přítomností sporých sekretorických protilátek. V tomto období opustil E. N. Fox výzkumné pole vakcíny.

Pozitivní efekt intranazální vakcinace měli D'Alessandri et al. 1978, přičemž nebyla žádná korelace mezi protekcí a titrem protilátek anti-M měřených hemaglutinační technikou. Subkutanní vakcína nebyla na rozdíl od výše citované studie Foxe z roku 1973 úspěšná.

V posledních letech je v popředí zájmu M proteinová vakcína připravená šetrnou peptickou digestí při suboptimálním pH. Preparát je prost bílkoviny asociované s M proteinem (odpovědné za nežádoucí reakce přecitlivělosti) a lze jej vysoce purifikovat (např. afinitní chromatografií). Uvedený postup je však účinný jen u některých typů streptokoků, neúspěšný je např. u epidemiologicky významného typu M 12. Beachey (1979) prokázal, že je taková substance dobře imunogenní a nevede k tvorbě protilátek reagujících zkříženě s lidským myokardem. Dobrovolníci nebyli po očkování uměle infikováni, efekt vakcinace byl měřen nepřímo in vitro hlavně v podmínkách baktericidního testu a in vivo v protektivním testu na myších. Nebyly lokální ani systémové reakce.

M protein lze štěpit na polypeptidové fragmenty, jejichž determinanty (epitopy) vyvolávají typově specifické protilátky (Beachey 1978, Havlíček 1985). M protein obsahuje též epitopy nespecifického charakteru, které mohou být antiopsonizační (Havlíček 1985).

Počítá se s tím, že budou aktivní polypeptidy vyráběny synteticky a užívány po odstranění zkřížených reakcí s bílkovinami myokardu k vakcinaci ve spojení s adjuvanty (např. muramylpeptid) a s materiály zpomalující resorpci (např. liposomy), (Rotta 1983).

Nezbytnost opřít naši epidemiologickou surveillance o studium vztahů mezi streptokokem a infikovaným člověkem o solidní imunologickou bázi nás přivedla k volbě tzv. baktericidního testu, který sami raději označujeme test inhibice streptokoků v lidské krvi (přímý a nepřímý s účastí séra vyšetřované osoby). Považovali jsme jej za nejvhodnější model, který imituje do značné míry skutečné střetnutí živého streptokoka s imunitními faktory lidské krve jako hlavní obrannou silou makroorganismu. V tomto přístupu jsme byli od samého začátku konfrontováni s řadou pochybností o tom, že je systém M anti-M jediným principem účastným při fagocytárním zneškodňování streptokoka mikrofágy lidské krve.

Vzhledem k úzkému vztahu k vakcíně chceme nejprve uvést stručný přehled našich starších poznatků na poli humorální imunity.

Jestliže streptokok bohatě narůstá v lidském séru, přestože obsahuje homologní typově specifické protilátky anti-M, je při pokrytí (opsonizaci) těmito protilátkami dychtivě pohlcován a destruován v přítomnosti mikrofágů (granulocytů). Sami jsme věnovali mimořádnou pozornost imunitním faktorům lidské krve a výsledkem systematického studia 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 komplementu lidského původu, hlavně složky C 3 (Kahlich 1972).

Poznámka: V častých případech nízké hladiny sérových protilátek anti-M zaujímá komplex M anti-M jen část povrchu streptokoka. Opsonizace mikrobiu 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 opsonin C 3. Výše uvedené zjištění o vysokém podílu nositelů protilátek anti-M nízkého titru v našich imunologických přehledech podporuje představu o praktickém významu nespecifické protilátky v ochraně lidí před infekcí terénními kmeny, které nebývají bohatě vybaveny M proteinem.

Poznání nespecifického principu humorální imunity přivedlo naši pozornost ke studiu podstaty rezistence streptokoků v lidské krvi. Ukázalo se, že je závislá na harmonické výbavě buněčného povrchu M proteinem a nespecifickým receptorem (RF) výše zmíněné protilátky (nespecifického kofaktoru) a že má vztahy k patogenitě (Kahlich 1975, 1976). 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 (Kahlich 1968). 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 další etapě od roku 1978 jsme narazili v sérech některých osob na cytofilní mediátor, který blokoval aktivitu mikrofágů vůči opsonizovaným streptokokům (Kahlich 1978). 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 (Kahlich 1982). 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), vyzbrojujících 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 experimentálně epidemiologickou studii, jejímž hlavním předmětem bylo sledovat u 20 dobrovolníků vztahy mezi celulární přecitlivělostí a mezi námi rozpracovanými ukazateli imunologické obrany (tj. mediátory a inhibici 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 (Kahlich 1983).

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 (Kahlich 1983).

Určitá nestandardnost postupných šarží Mannozyu, pokud jde o chemickou charakteristiku a imunogenní i biologický efekt, nás vedla ke zkoumání aktivity plynulé řady preparátů získaných odstupňovanou dezintegrací *Saccharomyces cerevisiae*. Hlavním cílem bylo najít biologicky nejaktivnější preparát, dobře definovaný a perspektivní v čs. podmínkách.

Jako citlivý skrýningový ukazatel schopnosti stimulovat T buňky byl zvolen migračně inhibiční test při užití bílých elementů 16 dobrovolníků. Překvapila daleko nejvýraznější aktivita nerozpustného beta-1-3-glukanu, kterou připravil Ing. Z. Holan z Mikrobiologického ústavu ČSAV. Preparát nemá endotoxickou aktivitu ve smyslu Schwartzmannovy reakce.

Pokračovali jsme srovnáním produkce lymfokinů po stimulaci Mannozyem a glukánem. V modelu opsonofagocytárního testu jsme užívali separované mikrofágy, které byly preexponovány supernatantu separovaných lymfocytů inkubovaných v přítomnosti srovnávaných substancí. Opět byla shledána asociace mezi senzitivitou na zymosan a mezi tvorbou lymfokinů potencujících fagocytózu, přičemž byl glukán daleko výraznějším stimulátem než Mannozym. Po otestování neškodnosti v SÚKL má být zkoušena účinnost beta-1-3-glukanu nejprve u jednotlivých očkovaných dobrovolníků a v případě úspěšných výsledků pak v kontrolovaných terénních pokusech.

Během popsaných experimentálních prací jsme přiblížili studium nespecifické imunity přirozené infekci v podmínkách vojenského terénu. U příležitosti jedné explozivní monotypové epidemie jsme retrospektivně sledovali

vztah mezi distribucí znaku „nemoc — zdraví“ a mezi celulární přecitlivělostí k Mannozy mu měřenou kožním testem. Zjistili jsme, že byl ve skupině nemocných signifikantně nižší podíl pozitivních s indurativní reakcí než ve skupině bakteriologicky negativních. Obdobné výsledky jsme viděli i v sestavě sporadických streptokokových angín. Uvedené pozorování podpořilo předchozí nálezy o asociaci přecitlivělosti na zymosan s nespecifickými faktory imunity vůči streptokokům v podmínkách inhibičního testu s krví dobrovolníků.

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.

Kritický pohled na soudobé představy o imunitní obraně člověka vůči streptokokům má smysl především ve vztahu k perspektivě streptokokové vakcíny.

Více než 30 let se věnuje právem mimořádná pozornost M proteinu a anti-M protilátkám. Teze o M proteinu jako hlavním faktoru virulence (antifagocytární, antikomplementární a adhezivní princip) a typově specifické opsonofagocytóze anti-M ve funkci hlavního obranného mechanismu však zdaleka nedovolují beze zbytku vysvětlit mnohé důležité otázky.

Uvedme nejprve některé nesrovnalosti na experimentálním poli. Mnozí producenti M proteinu nejsou s to narůstat v indiferentní lidské krvi, ačkoli svědčí o produkci M proteinu bohatá tvorba homologních anti-M protilátek u králíků (Wiley 1972, Kahlich 1976, Hosein 1978).

Experimenty Flecka (1956) a Burové (1980) naznačují účast jiných protilátek než anti-M. Výsledky Becka (1972), Beckera (1973) a Burové (1979, 1980) pak navozují představu o spoluúčasti jiného faktoru virulence pro myš než M proteinu. Uvažuje se např. o aktivitě receptoru pro Fc fragment IgG ve stěně streptokoka (Burová 1981). V jejích experimentech (1980) stoupla po pasážích virulence pro myš a po přechodném poklesu narostla rezistence v lidské krvi za podmínek, kdy kmen ztratil originální M protein typu 12. Virulence pro myš není ovšem v obecném souladu s virulencí pro člověka (Wiley 1972).

Existence dalšího faktoru rezistence streptokoka v lidské krvi, kterou jsme sami našli a označili faktor RF (viz výše), byla podpořena i z jiného přístupu. Vakcinace totiž ukázala, že M determinanty nepředstavují celý funkcionální lokus, podmiňující výslednou rezistenci v krvi (Hosein 1978).

Je tedy zřejmé, že opsonofagocytární test neškýtá jednostranná kritéria jen pro přítomnost

M proteinu a anti-M protilátek. Ve skutečnosti odráží daleko obecněji faktory humorální imunity (specifické a nespecifické) — jakož i celulární imunity — v jejich střetu s rezistencí konkrétních testovacích kmenů, která záleží na harmonické výbavě stěny M proteinem a dalším faktorem rezistence RF. Znamé potíže ve vyhledávání vhodných dárců „neimunní indiferentní krve“ pro nepřímé testování protilátek anti-M v lidských sérech mohou být vedle nežádoucích stop anti-M protilátek v těchto krvích dány i tím, že jsou mimořádně citlivé na stopy anti-M a nedovolí s eventuálním přispěním nespecifického opsoninu požadovaný rychlý nárůst několika (aspoň pěti) generací testovacího streptokoka.

Námítky proti jednostrannému chápání úlohy M anti-M plynou též z řady závažných epidemiologických aspektů.

V systematicky sledovaných kolektivech lze pozorovat asymptomatickou kolonizaci producenty M proteinu, aniž vznikají onemocnění. Odpovídá to našim starším pozorováním o šíření kmenů se zanedbatelnou manifestností (Kahlich 1963). Podobně viděl Mauceri (1974) výhradně asymptomatické šíření producenta M 11, Šrámek (1955) pak převážně bezpříznakové nákazy producenty M proteinu v dětských kolektivech. Sami jsme v systematicky sledovaném kolektivu zastihli hromadné onemocnění kmenem M 25, který byl v daném kolektivu předtím nalézán jako dobrý producent M 25 jen u zdravých osob (Kahlich 1963).

Terénní původci hromadných onemocnění, zachycení v našem vojenském terénu, rostli většinou v malých matt-koloniích se širokou zónou betahemolýzy, nebyli většinou typovatelní králíčími antiséry vůči běžným aktuálním typům (Kahlich 1968, 1976) a vyvolávali nevýraznou odezvu anti-M (Kahlich 1975). Lišili se zřetelně od morfologicky vyhraněných selektovaných sbírkových producentů M proteinu, kteří slouží ve světě ke zobecňování imunologických představ v podmínkách tzv. baktericidního testu. Jejich rezistence v indiferentní lidské krvi byla v průměru nižší než rezistence sbírkových kmenů vybavených harmonicky M proteinem a nespecifickým faktorem rezistence RF.

Z prospektivní studie Gurguise et al. (1984), uskutečněné v egyptských rodinách, vyplynulo, že cirkulující protilátky anti-M nejsou s to zabránit kolonizaci sliznic homologním kmenem. Údaje o nemocnosti sledovaných osob v práci chybí.

Šrámek (1985) uskutečnil systematickou prospektivní studii kolonizace, onemocnění a protilátkové odezvy po přirozené infekci v kolektivech dětí. U 77 % a 84 % z celkového počtu 65 a 57 akvizic prokázal pouze asymptomatickou infekci, která však byla následována vznikem homologních anti-M protilátek. Děti se ubránily onemocnění po infekci producenty M proteinu přesto, že uvedené protilátky v době

infekce ještě neměly. Rezistence kmenů v podmínkách přímého testu, tj. ve vlastní krvi těchto dětí, nebyla zkoumána, takže chybí představa o účasti nespecifických imunitních mechanismů na zábraně onemocnění. Ve 45 % vymizely nabyté protilátky anti-M z jejich sér již během jediného roku. Většina izolovaných kmenů byla rezistentní ve vhodné „neimunní lidské krvi“, což autor interpretuje jako důkaz o přítomnosti M proteinu ve stěně testovaných streptokoků.

Jinak je třeba konstatovat, že neexistuje žádná prospektivní studie, která by prokázala ochranný účinek protilátek anti-M vůči vzniku klinického onemocnění.

Ani v dosavadních pokusech na dobrovolnících nebyla protekce vůči onemocnění asociována s cirkulujícími protilátkami anti-M, ani s protilátkami z nosního sekretu. Při pozorném rozboru tabulek uvádějících výsledky u jednotlivých dobrovolníků jsme našli značný podíl osob, které zůstaly ušetřeny onemocnění po arteficiální infekci virulentním streptokokem, ačkoli neměly v době infekce homologní protilátky anti-M (v tabulkách Foxe z roku 1973 8 ze 44 osob, Polly z roku 1975 7 ze 44, v materiálech D'Allessandriho z roku 1978 pak 11 z 84 dobrovolníků). Tato zjištění nejsou autory komentována a sama o sobě zpochybňují interpretovatelnost pokusů pouze z pozice M anti-M.

Všechny uvedené příklady vyvolávají naléhavou otázku, které faktory tedy chránily dobrovolníky či sledované osoby před vznikem onemocnění, jestliže neměli v době infekce protilátky anti-M?

Nikoho z autorů výše uvedených prací nenapadlo uvažovat a testovat úlohu faktorů nespecifické imunitní obrany. Nikdo nezkoumal osud streptokoka v krvi dobrovolníků před a po očkování nebo v souvislosti s akutní infekcí. Sami jsme v rámci pokusů o nespecifickou vakcinaci dobrovolníků dokázali v takovém přímém testu diferencovat podíl protilátek anti-M, nespecifické protilátky a hlavně úlohu nespecifické celulární imunity mikrofágů stimulovaných lymfokiny (Kahlich 1983).

Nález nespecifických protektivních mechanismů se zdá vyplňovat povážlivé mezery v tradiční interpretaci virulence a imunity principem M anti-M. Typově specifická opsonizace se nám jeví jen jako jedna, i když silná stránka bohatších možností sloužící k imunitní ochraně člověka proti streptokokům. Domníváme se, že námi popsané humorální a celulární nespecifické mechanismy představují vedle účinnější, ale prakticky úzké opsonizace bazální, daleko širší a do značné míry stimula-
telný mechanismus, který chrání většinu exponovaných lidí před přirozenou infekcí, vyúsťující v klinické onemocnění. Představujeme si, že hlavně obranný val mikrofágů je s to ve stimulovaném stavu — při zvýšení vnímavosti ke stopám anti-M a za eventuálního přispění nespecifické opsonizace — přibrzdit logaritmický

nárůst i virulentních kmenů, které kolonizovaly sliznici a mají tendenci k prudké invazi. V experimentálních podmínkách to odpovídá zjištění, že mikrofágy stimulované lymfokiny většinou zadržují inokulum testovacího kmene ve stacionární fázi. Schopnost separovaných bílých elementů, přecitlivělých k zymosanu, migrovat „odvážněji“ vůči živým streptokokům než buňky nepřecitlivělých osob podporuje představu, že se uplatňuje i pohotovější mobilizace mikrofágů do dějiště infekce.

Uvedené představy o úloze nespecifických mechanismů dovolují i lépe pochopit, proč jsme našli v systematicky sledovaných vojenských kolektivech poměrně nízkou průměrnou incidenci angíny $1 \pm 0,8$ na 100 osob a měsíc ve srovnání se značným rozšířením (10—25 %) odpovídajících T typů skupiny A u zdravých (Kahlich 1963). Přitom ukázaly naše imunologické přehledy anti-M nevelkou frekvenci protilátek vůči 2—3 typům, a to většinou v nízkých titrech (Kahlich 1975).

Popsané vlastní experimentální i epidemiologické zkušenosti, sebrané za dlouhá léta spojením klinické, epidemiologické, bakteriologické a imunologické metody práce, nás přivedly k názoru, že je mnoho důvodů k pojetí celého nespecifického principu do koncepce budoucí antistreptokokové vakcíny.

Kontrolované terénní pokusy, které by měly přinést kardinální důkaz o účinnosti vakcinace, se zdají málo reálné pro M proteinovou vakcínu, protože lze v prospektivní studii sotva čekat náhodnou koincidenci virulentního streptokoka s odpovídající typovou náplní použité vakcíny. O něco lépe jsme na tom se záměrem testovat účinnost nonstreptokokového imunogenu — imunomodulantu nespecifické antistreptokokové imunity. Po pečlivé metodické přípravě a orientačních pokusech na jednotlivých dobrovolnících, jak jsme je popsali výše, je nyní hlavním úkolem vybrat optimální preparát a rozvinout vlastní kontrolovatelné terénní pokusy.

Souhrn

Je podán přehled dosavadního snažení na poli antistreptokokové vakcíny, která by měla sloužit především jako alternativa penicilínové profylaxe a léčby osob ohrožených pozdními následky. Na jedné straně je zachycena historie zahraničního výzkumu, který je koncipován výhradně na protektivním efektu typově specifických opsonizačních protilátek, namířených proti antifagocytárnímu M proteinu. Vedle toho uvádí autor soubor vlastních poznatků o uplatnění nespecifické humorální a celulární imunity, která představuje širší, i když méně účinný prostředek imunologické obrany. Bilance obou principů popírá jedinečné postavení systému M anti-M, který je ve vztahu k praktické vakcíně spojen s řadou krajně obtížných dílčích problémů. Autor zastává názor,

že by měla budoucí antistreptokoková vakcína vycházet z obou principů, z nichž se zdá mít nespecifický zcela reálnou a bližší perspektivu.

Literatura

1. BEACHEY, E. H.: Bacterial adherence: Adhesin receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. *J. Infect. Dis.*, 143, 1981, č. 3, s. 325–245.
2. BEACHEY, E. H. - SEYER, J. M.: Repeating covalent structure of Streptococcal M protein. *Proc. nat. Acad. Sci.*, 75, 1978, č. 7, s. 3163–3167.
3. BEACHEY, E. H. - STOLLERMAN, G. H. - JOHNSON, R. H.: Human immune response to immunization with a structurally defined polypeptide fragment of Streptococcal M protein. *J. exp. Med.*, 150, 1979, č. 4, s. 862–877.
4. BECK, A.: The relationship of M protein to mouse virulence. *Isr. J. med. Sci.*, 8, 1972, č. 2, s. 117–121.
5. BECKER, C. G. - RESNICK, G. D. - SHUSTAK, S.: On the virulence of group A Streptococci. Evidence for the virulence factors other than M protein and capsule. *Amer. J. Pathol.*, 72, 1973, č. 1, s. 129–236.
6. BUROVA, L. A.: Vzaimootnošeníja meždu virulentnostju i naličijem M bělka gemolitičeskich streptokokov grupy A. *Ž. Mikrobiol. Epidemiol. Immunol.*, 1979, č. 3, s. 46–51.
7. BUROVA, L. A. - CHRISTENSEN, P. - GRUBB, R.: Changes in virulence, M protein and IgG Fc receptor activity in a type 12 group A Streptococcal strain during mouse passages. *Acta pathol. microbiol. scand.*, 88, 1980, č. 4, s. 199–205.
8. BUROVA, L. A. - CHRISTENSEN, P. - GRUBB, A.: Purified IgG Fc receptor from type 15 group A streptococci as a virulence faktor. VIII. intern. symposium on Streptococcus pyog. and Streptococcal diseases. Lund 1981.
9. D'ALESSANDRI, R. - PLOTKIN, G. - KLINGE, R. M.: Protective studies with group A Streptococcal vaccine. III. Challenge of volunteers after systemic or intranasal immunization with type 3 or type 12 group A Streptococcus. *J. Infect. Dis.*, 138, 1978, č. 6, s. 712 až 718.
10. FLECK, D. G.: Mouse protection and enhancement of phagocytosis by antisera to Streptococcus pyogenes. *Brit. J. exp. Pathol.*, 37, 1956, č. 4, s. 406–414.
11. FOX, E. N. - WITTNER, M. K.: Antigenicity of the M proteins of group A hemol. streptococci. II. Antibody response in rabbits to vaccines prepared with oil emulsions and alumhydroxide. *J. Immunol.*, 97, 1966, č. 1, s. 86–94.
12. FOX, E. N. - GROSSMAN, B. J.: Antigenicity of the M proteins of group A hemolytic Streptococci. V. The absence of antigenic determinants common to mammalian heart muscle. *J. Immunol.*, 102, 1969, č. 4, s. 970–974.
13. FOX, E. N. - WALDMAN, R. - WITTNER, M. K.: Infectivity trials in humans immunized with Streptococcal M protein vaccines. Symposium „Streptococcal disease and the community“. Amsterdam 1972.
14. FOX, E. N. - WALDMAN, R. H. - WITTNER, M. K.: Protective study with a group A Streptococcal M protein vaccine. I. Infectivity challenge of human volunteers. *J. clin. Invest.*, 52, 1973, č. 8, s. 1885 až 1892.
15. GURGUIS, N. - FRASER, D. W. - FACKLAM, R. R.: Type-spec. immunity and pharyngeal acquisition of group A Streptococci. *Amer. J. Epidemiol.*, 116, 1982, č. 6, s. 933–939.
16. HAVLIČEK, J.: M-protein — faktor virulence streptokoků skup. A (Streptococcus pyogenes). *Bull. čs. Společ. mikrobiol. ČSAV*, 25, 1984, č. 6, s. 7–13.
17. HOSEIN, B. - FISHETTI, V. A.: Opsonic antibody binding by Streptococci lacking antiphagocytis activity — VI. intern. symposium on Streptococcus pyogenes. Oxford 1978.
18. KAHNICH, 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 concrete situations and for the formation of a suitable conception of antiepidemic measures. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 11, 1967, č. 2, s. 211–220.
19. KAHNICH, R.: Complex surveillance of Streptococcus pyogenes. III. Immunological characteristics of Streptococcal resistance in blood and new aspects of type specific protection. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 20, 1976, č. 1, s. 61–75.
20. KAHNICH, R. - FRANĚK, J. - FRIČOVÁ, O.: Rozšíření a uplatnění beta-hemolytických streptokoků v nově vzniklých kolektivech. I. Manifestní a subklinická onemocnění. *Čs. Epidemiol. Mikrobiol. Immunol.*, 12, 1963, č. 2, s. 81–88.
21. KAHNICH, R. - FRANĚK, J. - FRIČOVÁ, O.: Rozšíření a uplatnění beta-hemolytických streptokoků v nově vzniklých kolektivech. II. Vztah mezi šířením u zdravých a uplatněním u nemocných. *Čs. Epidemiol. Mikrobiol. Immunol.*, 12, 1963, č. 2, s. 88–96.
22. KAHNICH, R. - FRANKOVÁ, V. - ČERNOCH, O.: Surveillance Streptococcus pyogenes ve vojenských kolektivech. *Čs. Epidemiol. Mikrobiol. Immunol.*, 17, 1968, č. 4, s. 208–216.
23. KAHNICH, R. - KOTLÁŘ, V. - SKOČIL, V.: Complex surveillance of Streptococcus pyogenes. I. Immunological surveys of anti M antibodies and possibilities of longterm epidemiological prognosis. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 19, 1975, č. 1, s. 48 až 60.
24. KAHNICH, R. - PROCHÁZKA, O. - DUBANSKÁ, H.: Participation of nonspecific factors in the destruction of type M12 Streptococcus in vitro. IV. Detailed characteristics of nonspecific cofactor and its nonspecific receptor. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 16, 1972, č. 4, s. 412–425.
25. KAHNICH, 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. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 19, 1975, č. 2, s. 207–216.
26. KAHNICH, 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. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 22, 1978, č. 3, s. 294–305.
27. KAHNICH, R. - PROCHÁZKA, O. - ŠVEC, M.: Complex surveillance of Streptococcus pyogenes. V. Protective features of cell-mediated immunity against group A Streptococci. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 26, 1982, č. 4, s. 369–404.
28. KAHNICH, 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. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 27, 1983, č. 2, s. 219–228.
29. MAUCERI, A. A. - SANDERS, E. - PAGE, P. R.: Streptococcal disease and the community. V. intern. symposium. New York 1974.
30. POLLY, S. M. - WALDMAN, R. H. - HIGH, P.: Protective studies with a group A Streptococcal M protein vaccine. II. Challenge of volunteers after local immunization in the upper respiratory tract. *J. Infect. Dis.*, 131, 1975, č. 3, s. 217–224.
31. ROTTA, J. aj.: Patogenní streptokoky. 1. ed. Praha, Avicenum 1983. 258 s.
32. SIMPSON, W. A. - BEACHEY, E. H.: Adherence of group A Streptococci to fibronectin on oral epithel-

- lial cells. Infect. and Immunol., 39, 1983, č. 1, s. 275 až 279.
33. STOLLERMAN, G. H.: Prospects for a vaccine group A Streptococci: The problem of the immunology of M proteins. Arthritis and Rheum., 10, 1967, č. 3, s. 245—255.
34. ŠRÁMEK, J.: Typově specifická protilátková odpověď po onemocněních vyvolaných streptokoky skup. A a po streptokokovém bacilonosičství. Seminář „Diagnostika a prevence streptokokových nákaz“. Lék. dům 8. 1. 1985.
35. WILEY, G. G. - BRUNO, P. N.: Streptococci and Streptococcal diseases. 1. ed. New York — London 1972.
- Klíčová slova: Antifagocytární M protein; Oponiny anti-M; Nespecifické opsoniny; Nespecifická celulární imunita; Koncepce vakcíny.