

Původci morbiliformního exantému v anglické, vysoce proočkované populaci

(Causes of morbilliform rash in a highly immunised English population)

Ramsay M, Reacher M, O'Flynn C, Buttery R, Hadden F, Cohen B, Knowles W a jiní
Arch Dis Child, Vol. 87, 2002, č. 3, s. 202-206
Volně přeložil a zkrátil MUDr. Vladimír Plesník

Cíl: Zjištění etiologie spalničkám podobné vyrážky s horečkou v populaci s vysokou proočkovaností proti spalničkám a zarděnkám

Metodika: Rozšíření rutinního testování slin nemocných dětí, prováděné praktickými lékaři ve východní části Anglie, o podrobné laboratorní vyšetření,

Výsledky: Infekce byla laboratorně prokázána u 93 (48 %) ze 195 vyšetřovaných dětí. Jejím původcem byl parvovirus B19 u 34 (17 %) vyšetřených, streptokok ze skup.A u 30 (15 %), virus herpes hominis typu 6 u 11 (6 %), enterovirus u 9 (5 %), adenovirus u 7 (4 %) a streptokoky skupiny C u 6 (3 %). U čtyř dětí byli zjištěni dva původci nemoci. Nikdo z nemocných neměl spalničky ani zarděnky.

Závěr: Testování slin nemocných pomáhá klinikovi vyloučit viry spalniček a zarděnek jako původce exantému. Pro surveilanci sporadického výskytu spalniček a zarděnek ve vysoce proočkované populaci je účelné zachovat praxi vyšetřování slin nemocných.

Infekčních agens, vyvolávajících u dětí morbiliformní exantém s horečkou, je celá řada. Mezi ně patří viry spalniček, zarděnek, parvovirus B19, nepoliomyelitické enteroviry, adenoviry, lidský herpesvirus typu 6 (HHV6) i streptokoky skupiny A (ssA). Ke stanovení přesné diagnózy je proto nezbytné laboratorní vyšetření nemocného. Mezi obyvatelstvem s vysokou proočkovaností proti spalničkám a zarděnkám převažují jako původci horečnatých exantémů jiná infekční agens, ale znalosti o epidemiologii a průběhu těchto onemocnění jsou malé.

Testování slin s cílem najít protilátky proti morbilám (M) a rubeole (R) bylo v Anglii a Walesu zavedeno po očkovací kampani v roce 1994. Je to neinvazivní a spolehlivý test, který si oblíbili lékaři vyšetřující morbiliformní exantémy provázené horečkou. Velkou většinu suspektních případů M a R toto vyšetření vyloučí. Bylo by velmi užitečné mít test k vyšetření slin i na další původce horečnatých exantémů, aby bylo možné prokázat jejich původce. Tím by bylo vyšetření slin u praktiků ještě oblíbenější a podpořilo jejich zájem na laboratorním průkazu etiologie nemoci. Při surveillance M a R je takové objasňování suspektních onemocnění nezbytné a umožňuje při nízké incidenci M a R vyloučit nebo potvrdit původce nemoci.

Za účelem objasnění etiologie současných případů horečnatého morbiliformního exantému ve vysoce proočkované populaci anglických dětí a k podpoře dalšího vývoje testů na jeho další původce, byly děti, které s tímto exantémem navštívily praktického lékaře, podrobeny širšímu laboratornímu vyšetření. Současně bylo u nich provedeno také vyšetření slin na protilátky proti M a R.

POPULACE A METODIKA

Do studie byly přijaty děti mladší šestnácti let, které přišly ke spolupracujícímu praktikovi s horečnatým morbiliformním exantémem. Studie probíhala ve východní oblasti Anglie v letech 1996 a 1998 u dětí, jejichž odpovědní zástupci (rodiče a jiní) souhlasili po předchozím poučení s účastí dítěte ve studii.

Studie byla schvalována etickou komisí místních zdravotnických úřadů.

Výběr praktických lékařů a plán spolupráce s nimi

O spolupráci na studii byli lékaři požádáni asistentkou HS (v originále „nurse“), která při návštěvě lékaře jim podrobně vysvětlila protokol studie a požadavky na spolupracujícího lékaře. Praktik, který se rozhodl ke spolupráci na studii, měl získat souhlas rodičů až 10 dětí k jejich vyšetření a dostal podrobné písemné instrukce a všechn potřebný materiál k dokumentaci, odběru a zaslání vzorků biologického materiálu. Na virologické vyšetření se u každého dítěte odebírala kapka krve a vzorek slin, dále výtěr z hrdla, který byl vyšetřen i bakteriologicky. Personál ordinace instruoval rodiče o způsobu odběru a zaslání vzorku stolice a o provedení dalšího stěru slin v domácnosti. Rodiče dostali písemné instrukce a materiál ke sběru těchto vzorků. AHS, podílející se na studii, byla v pravidelném kontaktu se spolupracujícími praktiky a v případě potřeby poskytovala rodičům další pokyny a pomoc.

Mikrobiologické vyšetření a výklad jeho výsledků

Od každého dítěte měly být získány k mikrobiologickému vyšetření tyto vzorky materiálu:

- Při zařazení do studie v ordinaci lékaře:
 - (1) Výtěr z úst se vzorkem slin na stanovení M a R IgM protilátek,
 - (2) Kapka krve na stanovení IgM protilátek proti parvoviru B19 a HHV6, odebraná z prstu pomocí atraumatické soupravy Tenderlet a kápnutá na filtrační papír,
 - (3) Výtěr z nosohltanu na rutinní bakteriologickou a virologickou kultivaci. Dva bavlněné tampony byly zavedeny nad tonzily a jeden byl vložen do bakteriologického, druhý do virologického transportního média.
- Odběr materiálu v domácnosti za týden od vzniku exantému:
 - (4) vzorek stolice na rutinní virologické vyšetření,
 - (5) druhý výtěr úst se vzorkem slin na stanovení IgM protilátek proti M a R.

Kultivace virů ze stolice

Asi 0,5 g stolice bylo rozetřeno ve 4 ml extrakčního roztoku, 4 minuty centrifugováno a po 0,2 ml inokulováno na kultury buněk Hep-2, opičích ledvin a PLC-PRF5. Láhve inkubovali při 37 °C na roleru po dobu 12 dnů a sledovali vznik cytopatického efektu. Pokud to bylo možné, byl virus určen pomocí neutralizace specifickým antisérem.

Kultivace virů z výtěrů nosohltanu

Výtěry byly vytřepány do transportního média a v množství po 0,2 ml byly inokulovány na kultury buněk MRC-5, Hep-2, opičí ledviny a PLC-PRF-5. Kultury inkubovali na rolerech při 33 °C po 14 dnů a sledovali vznik cytopatického efektu. Opět pokud to bylo možné typovali zachycené viry neutralizací specifickými antiséry. Každé dva dny testovali buňky pomocí lidských erytrocytů skupiny 0 na hemadsorpci. U dětí, které měly negativní virologickým nález ve vzorcích stolice i nosohltanu, předpokládali čerstvou adenovirovou infekci a vyloučili enterovirovou etiologii.

Bakteriologické vyšetření výtěrů z nosohltanu

Výtěry byly naneseny na krevní agar a anaerobně inkubovány po dobu 24 hodin. Dále je inkubovali na Hoyleho agar a inkubovali při 37 °C. Půdy odečítali a izoláty identifikovali pomocí latexové aglutinace protilátek a biochemickou soupravou k průkazu streptokoků. Pokud v kultuře vyrostly streptokoky skupiny A předpokládali, že dítě mělo spálu.

Vyšetřování slin na protilátky proti spalničkám a zarděnkám

Výluhy slin testovali pomocí capture radioimunoanalýzy na specifické IgM spalničkové a zarděnkové protilátky.

Vyšetření protilátek proti parvoviru B19 v kapce krve

Z filtračního papírku s kapkou krve vyřízli kousek o velikosti 0,5 x 0,5 cm, který pak vložili na dvě hodiny do 200 ml fosfátového ústoje. Výluh reprezentoval zředění séra na 1/16 a byl vyšetřen pomocí capture RIA na protilátky proti parvoviru B19 (**pB19**)

Vyšetření protilátek proti HHV6 u dětí mladších dvou let

(Postup je složitější, pro práci epidemiologa není potřebný, proto překlad neuvádím). Čerstvou HHV6 infekci diagnostikovali podle nízké avidity protilátek, nebo podle pozitivního výsledku PCR s nálezem HHV6 DNA ve slinách při negativní, či nízké hladině protilátek. Čerstvou infekci HHV6 vyloučili u dětí majících vysoce avidní protilátky (svědčí o dřívější nákaze), nebo bez protilátek a PCR negativních (u dětí s nízkou hladinou protilátek nelze vyloučit čerstvou infekci).

VÝSLEDKY

Ke spolupráci získali během let 1996-1998 39 praktických lékařů (z 82) a celkem 195 dětí. Každý lékař sledoval ve studii 1 – 39 dětí, většinou však 3. Všechny požadované vzorky se podařilo získat od 155 (79 %) ze 195 dětí přijatých do studie. Nejčastěji chyběl vzorek stolice (23 x).

Žádné dítě nemělo známky čerstvé infekce viry spalniček, nebo zarděnek. Nákaze jedním či několika agens byla prokázána u 93 (48 %) ze 195 vyšetřených nemocných. Žádné známky infekce nemělo 102 (52 %) nemocných. Převážně byla prokázána nákaza pB19 a streptokoky skupiny A (ssA). U dvou dětí našli obě tyto infekce. Častěji se dařilo objasnit etiologii nemoci u školáků než u mladších dětí (tabulka 1.). Podíl potvrzených případů infekce pB19 byl u starších (10-15 let) dětí vyšší, než podíl infekce ssA.

Tabulka 1. Počet a (%) laboratorně objasněných horečnatých morbiliformních exantémů

Věk.skupina	Bakterie		Viry		Parvovirus B19	HHV6	kombin.	spolu
	Strep.sk.A	Strep.sk.C	Adenov.	Enterov.	IgM pozit.	PCR či LAA		
Do 1 roku	0 (0)	1 (3)	1 (3)	2 (6)	1 (3)	7 (19)	12 (33)	36
1 rok	2 (4)	1 (2)	2 (4)	5 (11)	2 (4)	4 (9)	16 (36)	45
2 – 3 roky	13 (27)	0 (0)	3 (6)	1 (2)	12 (24)	-	28 (57)	49
5 – 9 roků	14 (30)	3 (7)	1 (2)	1 (2)	13 (28)	-	29 (63)	46
10-15 roků	1 (5)	1 (5)	0 (0)	0 (0)	6 (32)	-	8 (42)	19
Celkem	30 (15)	6 (3)	7 (4)	9 (5)	34 (17)	11 (6)	93 (48)	195

LAA = protilátky se slabou aviditou

Kombin. = pozitivní průkaz více než jedné infekce

Údaj o laboratorním průkazu nákazy pB19 není obrazem skutečného výskytu této infekce. Běžně se takto vyšetřují prakticky jen osoby s rizikem závažného průběhu parvovirové nákazy (např. těhotné ženy). Navíc velká část nákaz je inaparentních.

Výskyt horečky, kašle, rýmy, nebo konjunktivitidy byl v podstatě stejný u všech laboratorně objasněných onemocnění morbiliformním exantémem (tab. 2). Kašel s rýmou a konjunktivitidou byl dokumentován také u dvou případů infekce streptokoků skupiny A a jedné infekce pB19. Bolesti krku byly hlášeny u 6 (20 %) případů streptokokové infekce, ne však u parvovirové infekce.

Tabulka 2. **Symptomy laboratorně objasněných infekcí – počet a (%) nemocných**

symptom	ssA		ssC		Adenov.		Enterov.		Parvov.B19		HHV6	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
horečky	28	93	4	67	6	86	6	86	22	65	9	82
kašel	14	47	4	67	7	100	4	44	16	47	6	55
rýma	14	47	1	17	0	0	1	11	16	47	0	0
konjunktivitída	3	10	0	0	1	14	1	11	5	15	1	9
kašel+rýma+konjunkt.	2	7	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0
bolesti v krku	6	20	2	33	0	0	1	11	0	0	1	9
Celkem	30		6		7		9		34		11	

ssA =streptokok skupiny A ssC= streptokok skupiny c HHV6= herpesvirus hominis typu 6

Od nemocných se zdařila izolace několika enterovirů, adenovirů a streptokoků skupiny C. Jeden pacient měl ve výtěru z krku ECHO3 a ssC. Onemocnění vyvolávaná ssC měla průběh podobný jako onemocnění působená ssA. Adenovirus typu 1 byl zachycen u 4 dětí, typ 2 u dvou a typ 3 u jednoho pacienta. Mezi enteroviry byl nejčastěji izolován virus Cocksackie A21 (3x), pak ECHO viry typ 3,9 a 18, vakcinální poliovirus typu 2 a jeden netypovatelný enterovirus. Mezi dětmi, které byly kompletně vyšetřeny na infekci HHV6, mělo akutní nákazu 7/27 (26 %) dětí mladších jednoho roku a 4/29 (14 %) jednoletých dětí. U dvou kojenců byly prokázány ještě další infekce: u jednoho izolovali *Streptococcus pneumoniae* (současně měl akutní infekci HHV6), u druhého prokázali RS-virus a současnou infekci parvovirem B19.

DISKUSE

Po zavedení pravidelného očkování proti spalničkám a zarděnkám se staly tyto nákazy vzácnými. Klinická diagnostika horečnatých exantematických onemocnění se stala obtížnější.

Je ale také možné, že z obavy před diskreditací očkování nebo vyvolání paniky, nejsou případy spalniček a zarděnek hlášeny. Proto je užitečné laboratorně vyšetřit co největší podíl suspektních onemocnění.

Řada dětí s horečnatým exantémem měla podle laboratorního vyšetření známky infekce ssA nebo pB19. Streptokokové infekce obvykle provází bolest v krku, u starších dětí se objeví exantém. Nelze u našich pacientů vyloučit nosičství streptokoků, ale jejich onemocnění se objevilo ve stejném období a u stejně starých dětí jako u nemocných spalou. Uvádí se, že až 50 % nákaz pB19 je asymptomatických, ale až 30 % těchto infekcí provází exantém. Streptokoky skupiny A a pB19 byli původci velké většiny horečnatých exantémů u dětí ve věku 5-9 let.

Děti mladší dvou let byly vyšetřeny na infekci HHV6. Tato věková hranice byla zvolena proto, že primoinfekce HHV6 se manifestuje u malých dětí jako roseola infantum, kdežto většina dvouletých a starších dětí již tuto infekci prožila.

Mimo exantému neprovázely infekce ssA, HHV6 a pB19 jiné, charakteristické symptomy. Nákazy ssA a pB19 obvykle provázely kašel. Bolesti v krku uváděla pětina infikovaných ssA. S ohledem na možnost klinického vyloučení spalniček bylo významné zjištění, že jen velmi malá část nemocných měla konjunktivitidu. Naopak u laboratorně potvrzených případů spalniček mívá 93 % pacientů konjunktivitidu spolu s kašlem, nebo s rýmou.

Je známo, že nákaza některými enteroviry (ECHO 7, 9, 16, Coxsackie A4, A5, A16) může vyvolat exantém. Jeden enterovirus v této studii byl identifikován jako vakcinální poliovirus u nedávno očkovaného dítěte. Adenovirové infekce bývají jen zřídka provázeny exantémem, ale jejich asymptomatický průběh je často laboratorně zjištěn. Nález infekce RSV u jednoho pacienta sotva dokládá tento virus jako původce exantému.

Nejčastěji se nepodařilo prokázat etiologii exantému u kojenců do 1 roku věku. Ač bylo vyšetření zaměřeno také na HHV6 některé případy této infekce mohly uniknout zjištění pro malé množství materiálu k vyšetření, nebo pro odběr krve krátce po začátku nemoci.

Studie potvrzuje potřebu laboratorního vyšetření všech suspektních případů spalniček a zarděnek k objasnění etiologie nemoci. Zejména není-li v obrazu nemoci konjunktivitida jde nejspíše o jiné onemocnění. Je třeba pamatovat na streptokokovou etiologii exantému, zvláště u pacientů uvádějících bolesti v krku. Zde je namístě bakteriologické vyšetření výtěru z krku.

21 citací, kopie uložena v archivu odd. epidemiologie KHS Ostrava