

KLINISCHE LESSEN

(VAN DE R.K. UNIVERSITEIT TE NIJMEGEN)

Nieuwe virussen en de postulaten van Koch

DOOR PROF. DR. J. VAN DER VEEN

Dames en Heren,

Vele artsen zijn geneigd bij patiënten, aangetast door infecties die blijkens de klinische verschijnselen of het laboratoriumonderzoek niet door bacteriën worden veroorzaakt, de diagnose virusziekte te stellen. Aan de behoefte van de medicus, de ziekte ergens in zijn systeem te rubriceren, is hiermede voldaan, de patiënt is gerustgesteld door de mysterieuze, maar geenszins onheilspellende klank van het woord virus en de therapie baart geen zorgen. Gedurende de laatste tijd wordt deze diagnose echter minder populair. Door de toepassing van eenvoudiger technieken voor het kweken van virussen is virologisch onderzoek bij patiënten op ruime schaal mogelijk geworden. Er zijn gevoeliger methodes ontwikkeld voor het afzonderen van virussen, waardoor de kans op isolatie van virus is verhoogd. Deze vorderingen hebben geleid tot de ontdekking van vele virussen. Tussen 1948 en 1959 werden ruim 70 nieuwe typen bij de mens geïsoleerd en gedetermineerd. De kennis van infecties die door virussen zijn veroorzaakt, is zodanig toegenomen, dat men welhaast niet meer kan volstaan met de weinig zeggende aanduiding virusziekte; het lijkt noodzakelijk, de diagnose te specificeren.

In deze tijd van virologische bloei wil ik uw aandacht vragen voor een probleem van algemene aard, dat verschillende onderzoekers gedurende de laatste jaren heeft bezig gehouden: de vraag, welke criteria moeten worden toegepast, voordat mag worden aangenomen, dat een (pas ontdekt) virus in staat is ziekte te verwekken. Pas als hierover uitsluitsel is verkregen, kan het diagnostische virologische onderzoek in de praktijk vrucht opleveren.

Het vraagstuk, dat in deze les wordt aangesneden, is niet nieuw. Reeds meer dan een halve eeuw geleden werden de bacteriologen voor hetzelfde probleem geplaatst, toen zij door toepassing van nieuwe onderzoeksmethodes talrijke soorten bacteriën bij de mens aantroffen en naar een oorzakelijk verband tussen de gevonden bacteriën en ziekten zochten. PASTEUR wees op de specificiteit van infectieziekten: de ziekteverwekkende eigenschappen van verschillende soorten bacteriën zijn niet gelijk, maar voor iedere soort zijn ze constant en specifiek. KOCH heeft aangegeven, aan welke eisen moet worden voldaan, voordat een micro-organisme als de verwekker van een ziekte mag worden beschouwd. Deze eisen worden in den regel als volgt geformuleerd:

1. Het micro-organisme moet worden afgezonderd bij alle patiënten met de bewuste ziekte en er moet een duidelijk verband worden aangetoond tussen de aan-

wezigheid van het micro-organisme en de hierdoor veroorzaakte ziekteverschijnselen en lesies.

2. Het micro-organisme moet in vitro in zuivere kweek worden gekweekt.

3. Het op deze wijze gekweekte micro-organisme moet in staat zijn, bij gevoelige proefdieren een ziekte te veroorzaken, die gelijk is op de aandoening bij de mens en het micro-organisme moet weer uit de lesies van de proefdieren worden afgezonderd.

Aan deze drie voorwaarden van KOCH is enige tijd later een vierde toegevoegd, de zg. serologische of immunologische eis:

4. Patiënten of geïnfecteerde proefdieren moeten specifieke antistoffen ontwikkelen tegen het micro-organisme, dat aansprakelijk wordt gesteld voor de infectie, of ze moeten na een infectie minder vatbaar zijn voor een nieuwe besmetting met hetzelfde micro-organisme.

Niet altijd was het mogelijk, aan deze scherp geformuleerde eisen te voldoen, en in enkele gevallen werden bacteriën, bv. *Treponema pallidum* en *Mycobacterium leprae*, als ziekteverwekkers erkend, zonder dat ze in alle opzichten volledig de toets van KOCH hadden doorstaan. De voorwaarden van KOCH zijn echter buitengewoon heilzaam geweest voor de verdere ontwikkeling van de kennis van infectieziekten, omdat zowel ogenschijnlijk gefundeerde meningen als ongegronde speculaties over de pathologische betekenis van saprofiten hun zin verloren en niet meer verwarring konden stichten.

De postulaten zijn opgesteld voor bacteriële infectieziekten. Ze kunnen niet zo maar worden overgenomen voor virusziekten, aangezien virussen in vele opzichten van bacteriën verschillen. In tegenstelling tot bacteriën kunnen virussen zich alleen vermenigvuldigen in levende cellen, hetzij in vivo in mens of dier hetzij in vitro in weefselkweek. Proefdieren zijn meestal van nature geïnfecteerd door virussen en ook in weefselkweeken worden dikwijls spontaan virussen aangetroffen. Het is niet mogelijk, de aanwezigheid van virussen hierin met zekerheid uit te sluiten. Aan de voorwaarde, dat het oorzakelijke micro-organisme in vitro in zuivere kweek moet worden gekweekt, kan dus bij virusziekten niet worden voldaan. Virussen zijn kleiner dan bacteriën en kunnen een filter passeren, dat bacteriën niet doorlaat. Verder worden bij sommige virusziekten in bepaalde weefsels karakteristieke celinsluitels gevonden, een verschijnsel, dat bij bacteriële infecties niet wordt waargenomen. Wegens deze verschillen tussen bacteriën en virussen heeft RIVERS in 1937 voorgesteld de postulaten te herzien, zodat ze ook op virusziekten kunnen worden toegepast:

1. Het virus moet bij patiënten worden afgezonderd uit het weefsel waarin tijdens de ziekte specifieke lesies zijn, of uit het bloed of uit andere lichaamsvloeistoffen.

2. Filtraten van het infectieuze materiaal (weefsel, bloed), die geen bacteriën mogen bevatten, moeten in staat zijn, bij gevoelige proefdieren een ziekte te veroorzaken, die gelijk op de aandoening bij de mens en het moet mogelijk zijn, de ziekte met behulp van bacterievrije filtraten van het ene dier op het andere over te brengen.

3. De specificiteit en identiteit van de ziekte moeten door middel van immunologisch en — voorzover mogelijk — histologisch onderzoek worden bevestigd.

Uit virologische onderzoeken van de laatste tijd blijkt, dat ook de wijziging van RIVERS tekort schiet. De virussen, die in de voorafgaande jaren zijn gevonden (o.a. Coxsackie-, ECHO-, adeno- en parainfluenza-virussen), zijn in het merendeel der gevallen aangetroffen bij patiënten met licht verlopende aandoeningen. Ze veroorzaken slechts zelden dodelijke ziekteprocessen, zodat het meestal niet mogelijk is, post mortem verkregen weefsel histologisch en virologisch te onderzoeken. Wanneer histologisch onderzoek mogelijk is, worden dikwijls geen specifieke lesies of karakteristieke celinsluitsels gevonden. Het gelukt lang niet altijd, virus in het bloed of in andere lichaamsvloeistoffen aan te tonen, hetgeen misschien eveneens verband houdt met het lichte beloop van de ziekte. Aan de eerste voorwaarde van RIVERS kan dus meestal niet worden voldaan. Het merendeel van de nieuwe virussen voldoet evenmin aan de tweede eis. Alleen de Coxsackie-virussen en enkele ECHO-virussen kunnen bij proefdieren ziekte met karakteristieke lesies veroorzaken. Voor de overige onlangs gevonden virussen zijn tot dusver geen gevoelige proefdieren bekend.

Een van de grootste moeilijkheden bij het onderzoek naar de pathogene eigenschappen van de nieuwe virussen — een probleem, dat ook de studie van verschillende bacteriële infecties heeft bemoeilijkt — is de omstandigheid, dat vele van deze virussen commensalen zijn. Ze komen wijd en zijd verspreid voor, circuleren bij voortduring onder de bevolking en worden niet alleen bij zieken maar ook bij gezonden veelvuldig aangetroffen. Van slechts enkele virussen (sommige typen adeno-virussen) is het bekend, dat ze zich gedurende lange tijd in het lichaam kunnen handhaven. De meeste virussen veroorzaken voorbijgaande infecties. Personen, die geïnfecteerd zijn, scheiden gedurende enige tijd, variërend van enkele dagen tot verscheidene weken, virus uit. Daarna wordt het virus uitgestoten; het kan althans niet meer in de excreta worden aangetoond. De infecties gaan in den regel niet gepaard met ziekteverschijnselen en kunnen bij de commensale infecties worden gerangschikt.

Ter illustratie noem ik U de uitkomsten van een Amerikaans onderzoek in een weeshuis te Washington. Van ongeveer 40 kinderen werd iedere week de ontlasting op virus onderzocht. In een maand, die in tegenstelling tot het voorafgaande tijdvak was gekenmerkt door een lage frequentie van ziekten en be-

schouwd zou kunnen worden als een periode van goede gezondheid, werd bij alle kinderen eens of meermalen een bepaald type ECHO-virus afgezonderd. Een „pur sang” epidemioloog zou misschien geneigd zijn aan dit virus gezondheid bevorderende eigenschappen toe te schrijven. De mening, dat er in dit geval een wederkerige heilzame betrekking tussen virus en mens zou bestaan, werd echter ontzenuwd, toen in de hierop volgende periode hetzelfde ECHO-virus eveneens bij vrijwel alle kinderen werd gevonden, terwijl er nu wekelijks vele ziektegevallen voorkwamen en de morbiditeit was gestegen tot een peil, dat voor de inrichting als normaal kon worden beschouwd.

Uit onderzoeken, in ons laboratorium verricht, is gebleken, dat adeno-virussen algemeen verspreid onder de bevolking voorkomen. In de eerste helft van 1956 werden 114 schoolkinderen in Tilburg onderzocht; ongeveer 10 pct van hen werden gedurende deze periode door adeno-virus geïnfecteerd. Op de leeftijd van 4-5 jaar was de helft van de kinderen eens of meermalen met ten minste 4 verschillende typen adeno-virus geïnfecteerd, sommige zelfs met ten minste 8 typen. Vrijwel geen enkel kind ontsnapte aan een infectie met adeno-virus. Tot dusver werden door ons 10 verschillende typen adeno-virus uit materiaal van patiënten afgezonderd. Uit onderzoeken bij 12 groepen rekruten bleek, dat geen enkele groep vrij bleef van infecties met adeno-virus. Het aantal geïnfecteerde personen per groep varieerde van 1 tot 45 pct. Ten minste 80 pct van deze toonde geen duidelijke ziekteverschijnselen.

De verspreiding van vele virussen onder de leden van de samenleving komt vooral tot uiting in gemeenschappen, waar vatbare personen intensief contact met elkaar hebben. Ik wil in dit verband uw aandacht in het bijzonder op de ziekenhuizen vestigen, waar ruimschoots gelegenheid is voor circulatie van micro-organismen. In een kinderafdeling van een Amerikaans ziekenhuis werd enkele jaren geleden de ontlasting van alle in de kliniek opgenomen kinderen op Coxsackie-virus onderzocht; het onderzoek werd terstond na hun opneming uitgevoerd en vervolgens 1, 2 en meer weken later. Bij het eerste onderzoek werd in 6 pct der gevallen virus geïsoleerd. Daarentegen waren ruim 30 pct van de patiëntjes, die 15 dagen of langer waren opgenomen, positief. Het onderzoek was bij deze kinderen alleen gericht op het aantonen van Coxsackie-virussen. Indien men proeven om andere enterale virussen te isoleren had kunnen nemen, zouden er zeker nog hogere percentages positieve uitkomsten zijn gevonden. Deze en andere onderzoeken tonen aan, dat commensale virussen, zoals Coxsackie-, ECHO- en adeno-virussen, zich snel en gemakkelijk onder de ziekenhuisbevolking kunnen verspreiden. Het zal U duidelijk zijn, dat grote voorzichtigheid is geboden, indien er in de kliniek een onderzoek wordt verricht over het etiologische verband tussen een dergelijk virus en een bepaalde ziekte.

Er rijst nog een ander probleem bij de beantwoording van de vraag, of een virus ziekteverwekkende eigenschappen bezit. Herhaaldelijk zijn bij gezonden

en zieken gelijktijdige infecties met verschillende virussen waargenomen. Het wordt dan moeilijk vast te stellen, welk virus verband houdt met de ziekte. Wij hebben verscheidene malen gevonden, dat patiënten met acute aandoeningen van de luchtwegen tegelijkertijd door influenza A- of B-virus en adeno-virus waren geïnfecteerd. Gelijktijdige infecties met adeno- en Cocksackie-virussen en met twee verschillende typen adeno-virussen werden eveneens in ons laboratorium waargenomen. In de literatuur zijn talrijke voorbeelden van dubbele infecties beschreven; bij één kind werden in de tijd van één week zelfs 4 verschillende infecties vastgesteld. Wanneer bij patiënten, bij wie een virus is afgezonderd, stelselmatig zou worden gezocht naar andere virussen van dezelfde of van een andere soort, zouden ongetwijfeld veel meer gevallen aan het licht komen. Dat dubbele infecties zich niet alleen sporadisch voordoen, blijkt uit een Amerikaanse studie. Tijdens een epidemie van acute pharyngoconjunctivitis in een kindertehuis werd bij de meeste patiëntjes adeno-virus type 3 uit de keel of de conjunctiva afgezonderd; bij een groot aantal zieken werd bovendien in de ontlasting een ECHO-virus gevonden. Het ECHO-virus circuleerde echter reeds vóór het begin van de epidemie onder de kinderen en kon niet aansprakelijk worden gesteld voor de ziektegevallen. Dit voorbeeld maant opnieuw tot voorzichtigheid bij het trekken van conclusies ten aanzien van de pathogeniteit van nieuwe virussen.

Tenslotte wil ik er nog op wijzen, dat sommige virusziekten bij dieren door de additieve of synergetische werking van twee soorten micro-organismen worden veroorzaakt, bijvoorbeeld influenza bij varkens en hepatitis bij muizen. Het lijkt daarom van belang, bij onderzoekingen over de etiologie van nog niet verklaarde virusziekten niet star vast te houden aan de eis, dat slechts een enkel virus de verwekker is. Men moet rekening houden met de mogelijkheid, dat de ziekte door de samenwerking van twee (of meer) soorten micro-organismen wordt veroorzaakt.

Wanneer moet worden aangetoond, dat een nieuw virus de verwekker is van een bepaalde ziekte of een bepaald syndroom, zou men kunnen uitgaan van de postulaten van KOCH en van de wijziging van RIVERS, mits de voorwaarden niet naar de letter maar naar de geest worden opgevat. Ter voorkoming van misverstand lijkt het echter raadzaam de eisen voor virusziekten opnieuw te formuleren. HUEBNER heeft onlangs een nieuwe lijst van criteria opgesteld, die ik als volgt zou willen samenvatten:

1. Indien de desbetreffende ziekte klinisch goed is omschreven en herkenbaar is, moet het virus bij alle patiënten, die hieraan lijden, worden aangetoond. Bovendien moet het virus worden afgezonderd uit het aangetaste weefsel, indien dit op een geschikt tijdstip tijdens het ziekteproces voor onderzoek ter beschikking komt. Aangezien de ziekten in den regel niet dodelijk zijn, is het laatstgenoemde onderzoek zelden mogelijk.

2. Het virus moet worden gekweekt en in serie

worden overgeënt op proefdieren of weefselkweken en mag zich niet bevinden in de media, cellen en dieren, die voor deze proeven worden gebruikt. De eigenschappen van het virus moeten worden beschreven en het virus moet worden onderscheiden van andere, verwante of niet verwante virussen, in het bijzonder wat de antigene kenmerken betreft.

3. Door middel van epidemiologisch, klinisch en virologisch onderzoek bij patiënten met duidelijke ziekteverschijnselen, bij patiënten met minder duidelijke verschijnselen, bij gezonde contactpersonen en bij een gelijkwaardige groep personen die geen contact met patiënten hebben gehad, moet worden aangetoond, dat het virus de verwekker van de ziekte is en niet toevalligerwijze als commensaal zonder ziekte te veroorzaken in de onderzochte bevolkingsgroep heeft gecirculeerd.

4. Patiënten moeten specifieke antistoffen ontwikkelen tegen het micro-organisme, dat aansprakelijk wordt gesteld voor de infectie. Het is buitengewoon waardevol, indien door middel van vaccinatieproeven wordt aangetoond, dat de ziekte door immunisatie kan worden voorkomen.

De door HUEBNER gestelde voorwaarde, dat het virus in staat moet zijn bij vrijwilligers een ziekte te veroorzaken, die gelijk op de aandoening bij patiënten die langs natuurlijke weg zijn geïnfecteerd, heb ik opzettelijk weggelaten. Van medisch-ethisch standpunt kan met recht aanmerking worden gemaakt op het stellen van deze voorwaarde.

Gedurende de laatste jaren is met behulp van bovengenoemde criteria verschillende malen een etiologisch verband gelegd tussen een pas ontdekt virus en een bepaald ziektebeeld. Enkele voorbeelden wil ik noemen zonder in details te treden. Men heeft aangetoond, dat sommige Cocksackie-virussen de oorzaak zijn van herpangina, de ziekte van Bornholm, aseptische meningitis en myocarditis bij zuigelingen; voorts dat enkele ECHO-virussen de verwekkers zijn van aseptische meningitis en exanthemateuze infecties, en tenslotte dat bepaalde adeno-virussen niet-gedifferentieerde, acute aandoeningen van de luchtwegen, acute pharyngoconjunctivitis en epidemische keratoconjunctivitis veroorzaken. Verschillende virussen staan „op de nominatie”, in de groep van ziekteverwekkers te worden ingelijfd, maar hebben de toets der kritiek nog niet volledig doorstaan. Het is zeer waarschijnlijk, maar het staat nog niet geheel vast, dat bijvoorbeeld verschillende ECHO-virussen de verwekkers zijn van diarree bij jonge kinderen en dat sommige para-influenza-virussen lichte of ernstige aandoeningen van de luchtwegen veroorzaken, variërend van rhinitis tot bronchopneumonie. Wanneer U bedenkt, aan welke eisen moet worden voldaan, zal het U niet verbazen, dat een definitief antwoord pas kan worden gegeven na uitgebreide onderzoekingen, die kostbaar zijn en veel tijd vergen. Het is gemakkelijker een nieuw virus te isoleren en zelfs te determineren dan een oordeel uit te spreken over de ziekteverwekkende eigenschappen hiervan.

Nijmegen, september 1959