

Z bakteriologicko-serologického  
ústavu university Karlovy; přednosta prof. Dr. Ivan Honl.

## **Serodiagnostika tuberkulosity vazbou komplementu dle Neuberg-Klopstocka.**

MUDr. František P a t o č k a, asistent ústavu, Praha.

Ve snaze, najíti methodu, jež by umožnila diagnosu tuberkulosity v případech, kde se neprojevuje klinicky, propracována ve všech bodech do velmi jemných podrobností serodiagnostika této choroby. Podnětem k tomuto pilnému bádání byly jednak úspěchy, dosažené v serodiagnostice lues a to zejména latentních stadií eventuálně lues terciární, postihující vnitřní orgány, za druhé, naděje že se podaří touto cestou rozlišiti proces aktivní od inaktivního, když to již není možno žádnou klinickou methodou, ani vyšetřením bakteriologickým.

Naděje tyto byly do značné míry zklamány, přesto však dvacetiletí práce v tomto oboru přineslo mnoho nových a zajímavých objevů, z nichž některé zdají se otvírati cesty novým směrům. K diagnostice tuberkulosního procesu byly použity všechny serologické methody, jichž používáme k diagnostice jiných infekčních chorob, neosvědčily se však stejnou měrou. Jako málo spolehlivá ukázala se být agglutinace BK serem pacientovým a nedoznala obecnějšího rozšíření ani tehdy, když byly bacily předem připraveny methodou Fernet-ovou (částečně zbaveny lipoidního pouzdra), čímž se citlivost reakce značně zvýšila. Něco spolehlivější ukázala se být precipitace s výsledky dle Bonacorsi-ho až 90% u tuberkulosních lidí. Průkaz opsoninů, bakteriolyzinů a obraných fermentů dle Abderhaldena má dodnes význam vlastně jen theoreticky. Meistagminová reakce, jež vlastně zklamala u diagnostiky nádorů, zdá se být methodou velmi slibnou u tuberkulosity, těšila se však až posud (snad pro svůj čistě fysikálně-chemický ráz) dosti malé pozornosti experimentátorů. Nejlépe propracovanou, nejhojněji používanou a jak se zdá i s nejlepšími výsledky jest methoda vazby komplementu.

Method vazby komplementu jest vlastně celá řada, myslím však, že by se jednotlivé spíše daly považovati za pouhé modifikace, neboť provedení reakcí jest v podstatě téměř stejné jako u reakce Wassermannovy při lues a hlavně

se od sebe liší různou přípravou antigenů. Prvním z nich byl Kochův starý tuberkulin, pak následovala suspense bacilů ve fyziologickém roztoku; hned na to zvýšena citlivost a specifita antigenu Besredkou, který doporučil suspensi umrtvených tuberkulosních bacilů pěstovaných krátkou dobu na jím sestaveném vaječném bouillonu. Stejně úspěšný jest antigen Wassermannův s použitím tetrahydronaftalinu (odtučený, obsahující většinou jen bílkovinu bacila Kochova) ale smíšený s lecithinem a konečně řada jiných, jež v protívě k předešlému se snaží z mikroba extrahovat látky lipoidní, pokládáné od části autorů za jedině aktivní antigeny. Všeobecně jest o povaze antigenů málo známo; dají se charakterisovati jako látky, jež in vitro se serem tuberkulosních vážou komplement. Snášejí dobře temperaturu  $110^{\circ}$ , aniž by pozbyvaly účinnosti, rovněž teplota kolem bodu mrazu jim neškodí. Jak vyplývá ostatně z předeslaného není shody o jejich chemickém složení. Jedni pokládají za nejdůležitější frakci proteinovou, druzí lipoidní, třetí pak složité uhlohydráty. Fyzikálně chemicky jest ohromně důležitý jejich poměr k fási dispergující, t. j. rozpustidlu. Jest dnes nade vše pochybnost jisto, že účinný antigen tuberk. musí býti kolloidem a jistě míra účinnosti jest závislá na velikosti částicek suspendovaných a patrně stoupá jejich zmenšováním. Nejbližší pravdě zdá se být názor Klopstock-ův, jenž jednak klade důraz na kolloidní povahu antigenu a za druhé tvrdí, že jedině účinná v antigenu jest sloučenina lipoidně-proteinová, neboť chemicky izolované lipoidy jsou téměř neúčinné a zrovna tak čistě izolované proteiny — jak patrně ostatně i z antigenu Wassermannova, jenž bez přidání lecithinu váže komplement pouze výjimečně a to v míře naprosto nepatrné. Opíraje se o tyto theoretické předpoklady pokusil se sestrojiti Klopstock nový antigen, v němž právě se snažil ve značnějším množství zachytiti látky, jež v míře pouze nepatrné jsou obsaženy v antigenech ostatních, t. j. jak on tvrdí, jedině účinnou lipoidně-proteinovou frakci bacila tuberkulosního s mohutnou schopností antigenní. K tomu použil nálezu Neubergerova (1916), jež ukázal, že vodné roztoky solí některých organických kyselin a to benzoové, salicylové a benzosulfonové mají schopnost hydrotopie, to jest vlastnost, převáděti do vodného roztoku ve větší míře látky, normálně ve vodě těžko, nebo vůbec nerozpustné a sice různé ketony, aldehydy, estery, zejména pak nejrůznější proteiny a lipoidy. Jelikož soli kyseliny benzoové a salicylové jsou fyziologicky indiferentní, hodí se velmi dobře i k přípravě antigenu, zejména pak ve zředění 1 : 10 nejeví žádnou škodlivou vlastnost na vazbu komplementu. Výsledky, které Klopstock sám obdržel se svým antigenem jsou velmi uspokojivé, specifita zdá se být přísná a zejména se sery luetickými reakce jsou až na mizivé výjimky negativní.

Jelikož antigen tento jest z nejnovějších v celé řadě dosud vynalezených, výsledky dle autora příznivé a mimo to dosud málo přezkoušen, provedl jsem s ním řadu reakcí na klinicky přesně vedeném a kontrolovaném materiálu tuberkulosních nemocných, jež mi s ochotou poskytla k dispozici státní nemocnice na Královských Vinohradech, sanatorium Českého zemského pomocného spolku na Pleši a kojenecká klinika profesora Švehly. Antigen jsem si připravil jednak sám, z virulentních kmenů tuberkulosních vypěstovaných v ústavě, jednak k vůli kontrole jsem si nechal zaslati postřednictvím Dra. Klopstocka od firmy Schering a Kahlbaum z Berlína, která ho vyrábí pro obchod po továrnicku. Příprava antigenu dle Klopstockova receptu jest dosti jednoduchá a vyžaduje doby asi 14 dnů; 0.1 g usmrcených a dobře usušených tuberkulosních bacilů rozetře se v achátové misce na jemný prášek a suspenduje v 20% roztoku čistého natrium benzoátu (který se osvědčil lépe než natrium salicylát). Suspence, za pokud možno nejhojnějšího třepání ponechá se po dobu 10—14 dnů v inaktivátoru při 60% Celsia. Po uplynutí této doby se sfiltruje a filtrát zředěný v poměru 1 : 10 nám představuje hotový antigen, schopný okamžitého použití. Technika jest zhruba stejná jako

při reakci Wassermannově; každému hlavnímu pokusu, předchází dva předběžné. Prvý spočívá v titraci systému komplement-amboceptor, druhý, zde zejména velmi důležitý, určuje kvantum antigenu, které již samo váže komplement. Je-li vlastnost, vázati komplement bez příslušného sera dána všem antigenům ve vyšších koncentracích, platí to zvýšenou měrou o antigenu Neuberg-Klopstockově; druhý předpokus musí být již z tohoto důvodu přesně proveden a za druhé autor sám doporučuje, aby k hlavnímu pokusu bylo vzato takové množství antigenu, jež se pohybuje právě na hranicích kvanta, jež samo váže komplement. Komplement má se užívat ve zředění 1 : 20, titrujeme-li však přesně v obou předběžných pokusech shledáme, že nejvhodnější ředění jest 1 : 15 — 1 : 18, při čemž přesná hodnota pro antigen místo šablonovitě udávaného ředění 1 : 10, vyjde asi v poměru 1 : 12, nebo 1 : 14. Pokusy dělal jsem s antigeny dvěma, svým ústavním dle Klopstockova receptu a s oním zasláným firmou Schering.

Výsledky měl jsem následující:

Prvých deset kreví pocházelo z pacientů Vinohradské nemocnice, vesměs s vyslovenou horečnatou tuberkulosou plicní s celkem infaustní prognosou. Z oněch deseti kreví 9 bylo pozitivních, jediná negativní. Kompletně pozitivní byly případy pouze 2: kavernosní tuberkuloza sub finem a dlouhotrvající chronická kavernosní phtisa. V případě negativním jednalo se o mladého muže s nálezem dosti těžkým. Tedy výsledek pozitivní v 90%, ovšem nutno přiznat, že ostatní pozitivní výsledky byly dosti slabé — asi tak na ++ dle běžného označení.

Další zkouška týkala se 38 kreví ze sanatoria na Pleši, zasláných ve 2 etapách. Pozitivních výsledků bylo 34, 4 negativní. Kompletně pozitivních výsledků bylo pouze 8, ostatní by se daly označiti 2 křížky. Snažil jsem se sledovati, jsou-li silně pozitivní výsledky v nějakém vztahu k tíži procesu, nenalezl jsem však ve všech případech paralelu. Pouze 4 z těch osmi byli ve stavu beznadějném, 2 ve stavu prostředně těžkém a 2 docela lehkém. Pro zajímavost uvedu 2 z oněch případů kompletně pozitivních po stránce nálezu klinického. Jeden 30-letý, ženatý zřízenec. Röntgenologicky: obě hrotová pole zaujata velkými dutinami, v pravém horním ještě 2 další. Mimo to skvrnitost obou polí plicních.

Mantoux: střední allergie. — Fahr. West: 66, 105, 120. — Sputum: pozitivní. — Teplota: horečnatá. — Celkový stav: velmi špatný.

Druhý jest z oněch dvou případů lehkých: 40-letý, ženatý, dělník. — Röntgenologicky: Pravé horní pole ke III. žeburu skvrnito cáry až hutnoty kalcifikační. Doleji málo obláček. — Mantoux: bouřlivá allergie. — Fahr. West: 25, 51, 100. — Sputum: negativní. — Teplota: normální. — Celkový stav: velmi dobrý, přírůstek na váze 6 kg.

Čtyři krve z kliniky kojenecké pocházely ze dvou dětí, u nichž se klinicky tuberk. onemocnění nedalo dokázati — reakce u obou kompletně negativní a ze dvou se specifickou lymphadenopathií tracheobronchiální, z nich však byl serologicky pozitivní pouze jediný, který mimo onu lymphadenopathií měl spina ventosa. Důležité jest přezkoušeti antigen na specifitu, zvláště, nereagují-li pozitivně sera luetiků. Osm ser se silně pozitivní reakcí Wassermannovou reagovalo s tímto antigenem negativně, rovněž tak deset dalších s Wassermannem negativním, u nichž dle udaných diagnos nebylo podezření na jakékoliv onemocnění původu tuberkulosního. Zdá se být tedy přísně specifickým. Rozdíly mezi antigenem, jež jsem si dle Neuberga sám vyrobil a továrním byly většinou kvantitativní. Dostával jsem totiž téměř ve všech případech silněji pozitivní reakci s prvním než se zasláným, pouze v jediném případě byl poměr obrácený. Shrnu-li výsledky konané na základě reakce se 70 sery, z nichž 50 pocházelo z individuí určitě tuberkulosních, mohu se vykázati s výsledky pozitivními v 88—90 procentech případů, což je jistě

velmi uspokojivé. Je sice pravda, že u většiny případů nebyly výsledky kompletně pozitivní, ale přece alespoň do té míry, že nebylo o nich pochybnosti. Intensita reakce stoupá sice většinou s tíží případu, nedoporučuji však na to spoléhati, neboť jsem zaznamenal (byť i nečetné) případy zcela obrácené — a zde vysvětlení chybí. Mělo-li snad nějaký prognostický význam do budoucna (pro pacienta jenž se nachází právě náhodou ve stavu dobrém — signum zhoršení v příštích měsících) nepodařilo se mi rozhodnout, neboť zlepšení pacienti unikají z našeho dozoru; pokládám však tento výklad za zcela možný.

Na konec dovolím si podati krátký přehled výsledků, které dosáhli autoři jiní, většinou Němci. Rabinowitschová a Schulte-Tiggés (1927) srovnávali antigen s nejlepším dosavadním t. j. Besredkovým a shledali, že jest citlivější, zejména u případů velmi těžkých, kde Besredka selhává.

Oberste-Berghaus má výsledky téměř úplně stejné jako já, rovněž sera s pozitivním Wassermannem stejně jako u mne zůstala negativní. Ze čtyř případů kostní tuberkulózy 3 nereagovaly a jeden velmi slabě. Neuberger sám statistiku neuvádí, zdůrazňuje však vysokou specifitu svého antigenu. Nejobsáhlejší a nejpečlivější měření provedl Siegfried, jenž se rovněž snaží řešit otázku, stoupá-li intensita reakce s tíží onemocnění. Srovnává jednak s reakcí Pirquetovou, jednak se sedimentací krvinek a dospívá k závěru, že výsledek serologické reakce dle Neuberger-Klopstocka o 3 až 5% převyšuje reakci Pirquetovu, zejména u starých, cirhotických tuberkulos v klidu se nacházejících. Tvrdí dále, že serologická aktivita nemá nic společného s klinickou a následkem toho pozitivní vazba komplementu nám neříká nic o potřebě léčení, ani prognose onemocnění.

Netroufám si na základě svých pokusů tvrdit něco zcela opačného, mám však dojem, že po důkladnějším propracování této reakce a jí podobných modifikací, nebude reakce vazbou komplementu zcela bez užitku pro zjištění aktivity procesu a jeho prognostiku.

### Résumé.

Ass. Dr. F. Patočka, Praha: La méthode sérodiagnostique  
Neuberger-Klopstock.

Les efforts de faire le diagnostic de la tuberculose même dans les cas initiaux dans lesquels on ne le peut faire guère par l'exploration clinique, puis, les efforts faire la différence parmi sa forme évolutive et calme conduisaient à l'amélioration continuelle des différentes méthodes sérologiques dont les meilleurs sont celles de la déviation du complément.

Une des plus nouvelles d'elles est la méthode de Neuberger-Klopstock. Les auteurs ont préparé l'antigène en utilisant le phénomène d'hydrotopie, quand ils ont secoué les bacilles de Koch avec une solution de natrium benzoicum.

En nous servant de cette méthode, qui est pratiquée suivant les règles générales (Wassermann), nous avons fait l'épreuve avec le sang de 70 gens sûrement tuberculeux, quelques-uns sains et quelques-uns dont la réaction de Wassermann était complètement positive.

Chez les tuberculeux le résultat était positif de 88—90%, chez les autres complètement négatif. L'antigène de Neuberger-Klopstock semble être alors très efficace et spécifique.

L'intensité de la réaction s'agrandit avec la gravité de la maladie dans la plupart de cas, mais pas toujours; il est alors recommandable de ne faire les conclusions qu'avec la plus grande précaution. Nos résultats correspondent presque totalement avec ceux des autres auteurs, qui tiennent cet antigène pour plus précis que celui de Besredka.