
Z Zakładu Mikrobiologii Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu M. C. S. w Lublinie
Dyrektor: Prof. Dr Ludwik Fleck.

Ludwik FLECK, Halina PAWŁOWSKA i Janina SZCZYGIELSKA

Swoiste wzmacnianie odczynu Wassermann'a przy pomocy efektu sumacyjnego.

The specific strengthening of the Wassermann test by means of the summing up effect.

W latach 1937 i 1938 podał Fleck metodę swoistego wzmacniania odczynu Wassermann'a, polegającą w zasadzie na dodawaniu do surowicy badanej podprogowych ilości wzorcowej surowicy dodatniej. Wynik odczynu jest skutkiem sumacji niweczników surowicy wzorcowej i niweczników surowicy badanej i może być w niektórych wypadkach dodatni, nawet jeśli badana surowica kilowa jest z powodu zbyt małej zawartości reagentu ujemna w klasycznych próbach Wassermann'a

Schemat odczynu wygląda tak:

Pierwszy szereg: 9 próbek z dodatnią surowicą wzorcową, inaktywowaną, w rozcieńczeniach kolejno: 1:20, 1:30, 1:45, 1:67, 1:101, 1:152, 1:228, 1:342, 1:513, — po 0,2 cm³. Do każdej próbki dodajemy 0,2 cm³ płynu fizjologicznego.

Drugi szereg: 9 próbek z dodatnią surowicą wzorcową w rozcieńczeniach jak wyżej, lecz do każdej próbki dodajemy 0,2 cm³ ujemnej surowicy wzorcowej, inaktywowanej, w rozcieńczeniu 1:5.

Trzeci szereg (ew. czwarty, piąty itd.): 9 próbek z dodatnią surowicą wzorcową w rozcieńczeniach jak wyżej, lecz do każdej próbki dodajemy 0,2 cm³ badanej surowicy, inaktywowanej, w rozcieńczeniu 1:5.

Do wszystkich próbek 0,2 cm³ antygenu i 0,2 cm³ komplementu w odpowiednich rozcieńczeniach, jak w reakcji Wassermann'a. Wiązanie, potem system (0,4 cm³) itd. jak w reakcji Wassermann'a. Oprócz zwykłych kontroli, kontrola mieszanych surowic: dodatnia surowica wzorcową (0,2 cm³ w rozc. 1:5) + surowica badana (0,2 cm³ w rozc. 1:5) + komplement, wiązanie, system.

Pierwszy szereg podaje nam miano użytej dodatniej surowicy wzorcowej (np. 1 : 67).

Drugi szereg wykazuje obniżenie tego miana (przesunięcie na lewo) z powodu inhibitora z surowicy prawidłowej.

Trzeci szereg wykazuje przesunięcie miana na lewo, jeśli surowica badana jest ujemna, lub na prawo, jeśli surowica badana zawiera reaginy wassermannowskie, przynajmniej $\frac{1}{3}$ część tej ilości, która dawałaby sama bez podprogowej dawki surowicy dodatniej wynik pozytywny w próbie Wassermana.

W przeddzień nastawienia próby seryjnej dobrze jest wymiarować kilka surowic dodatnich w rozcieńczeniach większych i wybrać jako dodatnią surowicę wzorcową taką surowicę, która posiada miano pomiędzy 1 : 45 a 1 : 100. Słabsze nie nadają się, ponieważ dodawanie ich jest połączone ze zwiększeniem ilości inhibitora, sil-

T A B E
WYNIKI JEDNEJ SERII PRÓBY WZMOC-

	ROZCIEŃCZENIA DODATNIEJ SUROWICY					
	1 : 20	1 : 30	1 : 45	1 : 67	1 : 101	1 : 152
Sól fizjologiczna 0,2 cm ³	++++	++++	++++	++	—	—
Ujemna surowica wzorcowa 1:5 0,2 cm ³	++++	—	—	—	—	—
1) Badana surowica nr 1143 1:5 0,2 cm ³	++++	++++	++++	++++	++++	++++
2) Badana surowica nr 1095 1:5 0,2 cm ³	++++	++++	++++	++++	++++	++++
3) Badana surowica nr 1154 1:5 0,2 cm ³	+++	—	—	—	—	—
4) Badana surowica nr 1140 1:5 0,2 cm ³	+	—	—	—	—	—

- 1) Lues I, seronegativa, Spir. pall. +
- 2) Lues latens, leczony. WaR (—)
- 3) Lues latens, leczony, WaR (—)
- 4) Observatio, WaR (—)

niejsze są również mniej odpowiednie bo ew. przesunięcie na prawo będzie mniej wyraźne: objęcie conajwyżej 2 – 3 rurki do końca szeregu. Miara wyniku wzmacnienia jest ilość probówek, o które przesunęło się na prawo miano mieszanych surowic w porównaniu z mianem dodatniej surowicy wzorcowej. Można by na tym oprzeć nawet ilościowe obliczanie reagin, gdyby przesunięcie to było wyłącznie wynikiem sumacji. Proste rozważanie wskazuje jednak, że rolę gra tu jeszcze inny czynnik: jeśli przyjmiemy za Eaglem, że dodatni wynik próby WaR w takiej technice wymaga obecności około 16 jednostek przeciwciała, to przesunięcie na prawo o jedną probówkę dowodziłoby obecności w surowicy badanej około 5 jednostek, o dwie rurki około 9 jednostek, o trzy rurki około 11 jednostek, o cztery rurki około 13 jednostek czyli tej ilości, która już wystarcza do wywołania próby dodatniej bez wzmacnienia. Nie powinno więc istnieć przesunięcie większe niż

L A 1.

NIENIA ODCZYNU WASSERMANNNA

WZORCOWEJ po 0,2 cm ³			Kontrola surowic mieszanych.	Odczyt	Wynik próby
1 : 2/8	1 : 3/42	1 : 5/13			
—	—	—	—	miano 1 : 45	—
—	—	—	—	przesunięcie w lewo o 2 rurki	—
++	—	—	—	przesunięcie w prawo o 3 rurki	dodatni
++++	++++	+	—	przesunięcie w prawo o 5 rurek	dodatni
—	—	—	—	przesunięcie w lewo o 2 rurki	ujemny
—	—	—	—	przesunięcie w lewo conajmniej o 2 rurki	ujemny

TABELA 2
ZESTAWIENIE WYNIKÓW 214 PRÓB.

Rozpoznanie	Liczba surowic	Liczba wyników dodatnich	Rozmiar przesunięcia na prawo
Lues I seronegativa. Spir pall. (+)	16	3	raz przesunięcie o 2 rurki raz przesunięcie o 3 rurki raz przesunięcie o 4 rurki
Lues II, WaR (-) leczone przypadki.	7	1	przesunięcie o jedną rurkę
Lues III, WaR (-), leczone przypadki	6	0	
Tabes dorsalis, WaR (-), leczonego przypadku	1	0	
Lues latens, WaR (-), leczone przypadki	74	13	raz tylko wzmocnienie stopnia zahamowania 7 razy przesunięcie o 1 rurkę 3 razy przesunięcie o 2 rurki raz przesunięcie o 3 rurki raz przesunięcie o 5 rurek
Status febrilis, WaR (-)	14	4	2 razy przesunięcie o 1 rurkę raz przesunięcie o 3 rurki raz przesunięcie o 5 rurek
Stany wyniszczenia WaR (-)	7	0	
Nowotwory naświetlane WaR (-)	2	0	
Observatio, susp. q. luem WaR (-)	72	7	raz tylko wzmocnienie stopnia zahamowania 3 razy przesunięcie o 1 rurkę raz przesunięcie o 3 rurki 2 razy przesunięcie o 4 rurki
Inne, kiła wykluczona WaR (-)	15	0	

o 4 rurki, jeśli badamy surowicę z ujemnym klasycznym Wassermannem. Tymczasem doświadczenie uczy, że bywają surowice ujemne w klasycznej próbie WaR, dające przesunięcie o 6 probówek. Przyczyną tego jest prawdopodobnie ta okoliczność, że oprócz sumacji rolę wzmacniającą gra także relatywny ubytek inhibitora: sumują się niweczniki, nie sumują się proporcjonalnie inhibitory, bo surowica wzorcowa użyta jest w wielkim rozcieńczeniu¹⁾.

Kontrola mieszanych surowic wykazuje tylko b. rzadko zahamowanie hemolizy, jeśli kontrole obu surowic oddzielnie zahamowania nie dają. Mimo to uważamy kontrolę tę za wskazaną.

Podaną techniką zbadaliśmy 214 surowic z ujemnym odczynem WR, w tym 104 kiłowe. Tabela 2 podaje wyniki.

Otrzymaliśmy więc na 214 surowic ujemnych w klasycznym odczynie Wassermann'a 28 wyników dodatnich. Na korzyść próby wzmocnienia przemawiają z tego dodatnie wyniki w przypadkach napewno kiłowych w liczbie 17. Wyniki dodatnie w przypadkach podejrzanych o kiłę (7) nie dają się z naszego stanowiska wykorzystać w kierunku oceny naszej metody: tylko klinika mogłaby rozstrzygnąć czy wynik nasz potwierdził się. Prawdopodobnie niekorzystne są 4 wyniki dodatnie na 14 osób w stanach gorączkowych, przynajmniej niektóre z nich są nieswoiste, jakkolwiek nie mogliśmy kiły w zupełności wykluczyć. Z drugiej strony siedem surowic z przypadków wybitnego wyniszczenia i dwie surowice z przypadków nowotworów naświetlanych nie dały dodatniej reakcji wzmocnienia. Tylko wielka ilość prób może rozstrzygnąć, czy poza gorączką zdarza się nieswoiste wzmacnianie z częstością, która mogłaby praktycznie być ważną i czy nie można tego w zupełności uniknąć używając odpowiednich antigenów. W każdym jednak razie opisana metoda wydaje się zasługiwać na gruntowne wypróbowanie, bo dała o kilkanaście procent więcej wyników dodatnich w pewnej kiłę niż metoda klasyczna a prawdopodobnie zawiodła tylko w niektórych przypadkach gorączkowych, więc w warunkach, w których reakcja Wassermann'a zdaniem wielu autorów może dać wyniki nieswoiste.

Wydaje się nam możliwe zastosowanie zasady użytej w opisanej metodzie, tj. efektu sumacyjnego z podprogową ilością dodatniej surowicy wzorcowej, także do innych prób serologicznych, np. do reakcji wiązania komplementu z antygenem gonokokowym i zamierzamy próby odnośne przeprowadzić. Używanie surowicy uodpornionego królika jako wzorcowej napotyka niestety, jak dotąd, na trudności wynikające stąd, że mieszanina surowicy króliczej z ludzką często daje samoistne zahamowanie hemolizy.

¹⁾ Interesującą próbę wzmacniania odczynu Wassermanna przez usuwanie inhibitora podał Auguste w r. 1936.

PIŚMIENNICTWO.

1. L. Fleck: Studia z dziedziny serologii kity. Med. dośw. i społ. 1935, z. 3/4
 2. L. Fleck: Nowy sposób wzmacniania odczynu Wassermanna, Biul. Koła lek. Tozu, Lwów, 1937.
 3. L. Fleck: Wpływ surowic prawidłowych na przebieg reakcji serologicznych. Med. dośw. i społ. 1938, z. 1/2.
 4. L. Fleck: Ueber Reaktionen und Pseudoreaktionen, I Mitteilung, Zeitschrift f. Immforsch, Bd 93, 1938, H. 1.
 5. L. Fleck: Ueber Reaktionen und Pseudoreaktionen, II Mitteilung, Zeitschrift f. Immforsch, Bd 94, 1938, H 1/2.
 6. H. Eagle: The Laboratory Diagnosis of Syphilis, 1937.
 7. Ch. Auguste: Annales Pasteur, T 56, Nr 1, 1936.
 8. Ch. Auguste: Presse Medicale, 1936, Nr 45.
-

S U M M A R Y.

The method of the specific strengthening of the Wassermann test described by Fleck in 1937 and 1938 consists in the adding to an examined serum (negative in the classical Wassermann test) of subthreshold quantities of standard positive serum. Fundamentally the result of the reaction is a consequence of the summing up of the standard serum's antibodies with antibodies present in the examined serum. Besides the ordinary controls a control of mixed serums is to be used.

Applying this method the authors obtained the results shown in table 2. Of 104 syphilitic sera which gave a negative reaction in the classical Wassermann test (Syphilis I, Syphilis treated) 17 reacted positively in our method.

