

E 161/10

Méltóságos
Dr. Jendrassák Ené c. y. r. kamarásmester
bírói hívteltell
Rudolf

AZ
ORVOSI HETILAP
TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEI.
— KÜLÖNLENYOMAT. —

1910. LIV. ÉVFOLYAM. 50—51. SZ.

**A Wright-féle vaccinás gyógyítás és
opsonin-technika mai állásának ismer-
tetése a londoni St. Marys-Hospitalban
szerzett tapasztalatok alapján.**

Írta :

Neuber Ede dr.

A DELEGÁCIÓK ÉS A TUD. EGYESÜLET

KÖNYVTÁRA

Dr. Jendrassák

BUDAPEST,

A PRESTI LLOYD-TÁRSULAT NYOMDÁJA.

1910.

895—896

912—915

AZ
ORVOSI HETILAP
TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEI.

— KÜLÖNLENYOMAT. —

1910. LIV. ÉVFOLYAM. 50—51. SZ.

**A Wright-féle vaccinás gyógyítás és
opsonin-technika mai állásának ismer-
tetése a londoni St. Marys-Hospitalban
szerzett tapasztalatok alapján.**

Irta :

Neuber Ede dr.

A DEBRECZENI M. KIR. TUD. EGYETEM
GONDOZÁSÁRA
KÖNYVTÁRA

Dr. Jendrássik

BUDAPEST,
A PESTI LLOYD-TÁRSULAT NYOMDÁJA.
1910.

A legutóbbi időben az immunitási bűvárlat egy igen értékes hajtással gazdagodott; a mely az illető orvosi körökben nagy fel-tűnést és érdeklődést keltett.

Wright körülbelül egy évtizeddel ezelőtt *Leishman* alapvető kísérletei nyomán arra a felfedezésre jutott, hogy a bakteriolytikus serumféleségeken kívül találkozhatunk még úgy a normális, mint az immun szervezet serumában olyan anyagokkal, a melyeknek kifejezetten védő hatásuk van, a nélkül azonban, hogy hatásuk közvetlenül baktericid volna.

Az utóbbi anyagok amboceptor nélkül fejtik ki hatásukat, s *Wright* felfogása értelmében a bakteriumokat mintegy a phagocytosisra előkészítik.

Wright elméletét a következő kísérleteken építette fel:

Ha serumuktól megszabadított vérsejteket bakteriumemulsióval hozott össze, s e keveréket bizonyos időre thermostatba helyezve, azután az utóbbi anyagból néhány cseppet tárgyüvegre felkent, a leukocyták csak igen kevés bakteriumot kebeleztek be; ha azonban ehhez a keverékhez friss serum néhány cseppjét keverte, akkor az előbbi kép rögtön megváltozott, a menyiben a leukocyták túlnyomó része már igen rövid idő alatt számos bakteriumot phagocytált. Ha a serumot előzőleg 60 C⁰-ra hevítette, ebben az esetben az intensivebb phagocytosis kimaradt, a hevítés tehát inaktiválta a serumot.

Az utóbbi kísérletek minden kétséget kizárólag bebizonyították, hogy a friss vér a szervezetbe jutott bakteriumok phagocytálását (legalább is túlnyomó részben) elősegíti, s hogy az opsonikus erő (*Wright*) a serumtól feltételezett.

Ezen alapvető kísérletek egyértelmű volta, továbbá a kivitel egyszerűsége az opsonin-elmélet sikerét az illető szakkörökben a lehető legrövidebb idő alatt biztosította.

Nem szándékom e helyen az opsoninelmélettel foglalkozni, csak pár szóval akarok a mai állásáról az immunitástanban megemlékezni.

Mielőtt *Wright* opsoninelméletét ismertette, az immunitásban főleg két nézet uralkodott: *Ehrlich* humoralis s *Metschnikoff* sejt-theoriája állott teljesen elszigetelten egymással szemben. Az utóbbi két egymástól teljesen eltérő felfogás között *Wright* elmélete mintegy összekötő kapcsot alkot.

Wright felfogása értelmében ugyanis a serumban és plasmában keringő opsoninok, ha bizonyos körülmények között baktériumokkal érintkeznek, az utóbbiakat főleg a polynucleáris leukocyták számára phagocytálhatóbbá teszik. Az opsoninok specifikusak; minden opsonizálható bakteriumnak specifikus opsonin felel meg.

A normális serum opsonikus ereje is már igen nagy. Az opsoninreactio már akkor is érzékíthető, a mikor baktericid vagy agglutináló jelenségek még egyáltalában nem mutatkoznak.

A normális vérsavó opsoninjai az alexinhez, a complementhez hasonlóan igen thermolabilisak; ha 15'-ig 60 C⁰-ra melegítjük őket, hamarosan tönkremennek; a vérsavó hosszabb állásánál is veszítenek hatásukból.

Wright szerint az opsoninok a baktériumokra s nem a leukocytákra hatnak. Ezt az állítását igen plausibilis kísérlettel erősítette meg.

Ha ugyanis normális serumot 60 C⁰-ra hevített, s ez által a normális opsoninokat tönkretette, akkor e serumnak bakterium- és fehérvérsejtemulsióval való összekeverése után a phagocytosis kimaradt vagy legalább is a minimumra redukálódott.

Ha azonban bármilyen normális serumot baktériumokkal bizonyos ideig állani hagyott, majd e keveréket 60 C⁰-ra felhevítette s megfelelő mennyiségű fehérvérsejtemulsiót adott hozzá, a phagocytosis igen kifejezetten jelentkezett.

E kísérletekből látható, hogy a serum, illetve az opsoninok a baktériumtestekhez kötődnek, s utólagos felhevítés után már nem tehetők tönkre, továbbá, hogy az opsoninok a baktériumokra hatnak stimulansként s nem a leukocytákra.

A normális és immun opsoninok között igen értékes és érdekes különbség áll fenn, a melynek különben rendes körülmények között gyakorlati jelentősége is lehet. A normális serum opsoninjai ugyanis 15'-ig tartó 60 C⁰-ra hevítés után tönkremennek, míg az immun opsoninok ilyen beavatkozás után csak igen keveset veszítenek a hatásukból.

E bevezető sorok után tulajdonképpeni tárgyamra, a *Wright* intézetében látott vaccinás eljárásra és az opsonintechnika mai állásának ismertetésére térek át.

Majdnem két évi külföldi tartózkodásom alatt számos német, francia és osztrák laboratóriumban láttam *Wright* elméletének értelmében vaccinás gyógyeljárást végezni.

A számos helyen végzett kísérletek eltérő eredményei *Wright* eljárásának az értékét kedvezőtlenül befolyásolták.

Engemet is, a teljesen objectiv érdeklődőt, a különböző laboratóriumokban látott és hallott eredmények, melyek néha egymástól teljesen eltérők, sőt ellentétesek voltak, e kérdést illetőleg teljesen tájékozatlanul hagytak.

Párisi tartózkodásom alatt magam is kezdtem foglalkozni e kérdésekkel a Pasteur-intézetben, igen tisztelt főnököm Metschnikoff professor támogatása mellett; majd megfelelő beteganyag hiánya miatt Metschnikoff tanácsára és ajánlásával Londonba utaztam, hogy Wright intézetében e kérdéseket illetőleg felvilágosítást nyerjek. Ezt a már régen várt feleletet igen rövid idő alatt megkaptam. Hamarosan meggyőződhettem ugyanis arról, hogy ugyanazon kérdésekben az egymástól eltérő és ellentétes eredmények majdnem mind technikai hibákra vezethetők vissza.

Már csekély eltérés a Wright technikájában igen kedvezőtlenül befolyásolhatja az eljárás értékét. Wright eljárása igen komplikált s a methodus technikai része sok apróbb laboratóriumi fogásból tevődik össze, melyek látással könnyen sajátíthatók el, de annál nehezebben alkalmazhatók leírás után.

E kérdéseket illetőleg a tájékozódás igen nehéz, mert *Wright* igen nagy számú közleményben ismertette elméletének és technikájának egyes részeit; ez idő szerint összefoglaló munkát még nem bocsátott közre.

Néhány német szerző már ismertette ugyan *Wright* methodusát, de ezek is főleg az eljárás elvéről szólnak s az eljárást magát csak főbb vonásaiban tárgyalták, a Wright-féle vaccinás gyógy-eljárás technikájáról pedig alig emlékeztek meg.

A különböző vaccinákkal kezelt betegek gyógylefolyásával és kórtörténeteiknek ismertetésével e helyen nem foglalkozhatom, csak röviden akarom megjegyezni, hogy az esetek túlnyomó részében már 1—2 injectio frappans hatású volt.

A betegek túlnyomó részét acne, furunculosis és scrophuloderma ellen kezelik, azonban gonococcus, streptococcus, colibacillus és tuberculosibacillus okozta megbetegedések is lehetnek a vaccinás kezelés tárgya.

Noha ezen kórosetekben is szép eredményeket mutathatunk fel, gyors és teljes gyógyulást azonban leginkább a könnyen hozzáférhető staphylococcusos megbetegedésekben láthatunk.

Az egész arcot és hátat elborító acneképletek, generalizált furunculusok, elmérgesedett carbunculusok néhány injectio után eltűntek.

Megemlítendő még az a körülmény is, hogy Wright intézetét rendszeren olyan betegek keresik fel, a kik más osztályokon különböző eljárásokkal eredménytelenül kezeltettek s ultimum refugiumképpen lepik el a londoni St. Marys-Hospital rendelő helyiségeit. Nemesak londoniak, de vidékiek is találhatók nagyobb számban e rendelésen.

Wright intézetében már nem is csodálkoznak azon, ha egy

vidéki angol munkás az opsonin-indexe után érdeklődik, vagy legalább is olyan gyakori jelenség ez, mint a mikor nálunk a vidéki ember a syphilistól való félelmében vérvizsgálatot kíván.

Igen érdekelt, hogy miképpen vélekednek az egyéb intézetekben nyert eredményekről, a melyeknek legalább is egyharmada határozottan kedvezőtlennek látszik feltüntetni Wright eljárásának értékét.

Kérdéseimre angolos rövidséggel azt felelték, hogy az illető szerzők vagy felületesen dolgoznak, vagy nincs elég jártasságuk a vaccina készítésében, adagolásában és az eljárást ellenőrző opsonin-technikában. E többé-kevésbé merész szavak igaz voltát előttem kezelt betegek sikeres gyógyításával minden kétséget kizárólag bebizonyították. Főleg a bakteriumanyag adagolása igényel nagy figyelmet s jártasságot. Helytelen adagolással a betegnek többet ártunk mint segítünk.

Az opsonin-index többszörös ellenőrzése nélkül még a leggyakorlottabb szakembernek sem lehet vaccinás therapiával foglalkozni.

Az alábbiakból igen könnyen érthető lesz, hogy a helytelen időben adott inoculatio milyen végzetes következményekkel járhat a betegre.

A vaccinát az orvos maga készíti el, vagy egy, kizárólagosan ezzel foglalkozó londoni cégtől vásárolja. Tekintettel arra, hogy a vaccina készítése igen egyszerű, csak pontosságot s igen szerény bakteriologiai berendezést igényel, ajánlatos, hogy az orvos maga tudja elkészíteni.

Előfordulhat ugyanis az az eset, hogy a talált bakteriumokat nem lehet komplikáltabb laboratoriumi eljárás nélkül meghatározni, avagy egyes fertőzés esete forog fenn, ilyenkor az illető baktériumból vagy *bakterium-féleségekből* készítünk vaccinát.

Wright intézetében szabály az, hogy ha 2—3 inoculációra a beteg állapota nem javul, félreteszik az állandósított vaccinát s a kezelést a betegből készített vaccinával folytatják.

Wright szerint a vaccina valamilyen chemiai anyag, mely a szervezetbe jutattva, védőanyagok képződését vonja maga után; más szavakkal, a vaccina bakteriotropikus anyagok termelődését váltja ki. Így például tuberculosis-vaccina adagolásakor tuberculotropikus anyagok keletkeznek.

A vaccinák Wright szerint elölt culturákból (60 C°) is előállíthatók, ez a tuberculosibacillusokra is vonatkozik.

A tuberculosivaccina *Wright* intézetében következőképen készül.

Néhány háromhetes glycerines bouillon-táptalajon tenyésző tuberculosisculturát szűrőpapiroson elválasztunk a táptalajától, a bakteriumokat megszáritjuk, s 60 C° mellett elöljük őket. Majd 0·1 0/0-os konyhasóoldat hozzáadása mellett üvegmozsárban 8—10'-ig alaposan dörzsöljük, majd megfelelő mennyiségű 1 0/0-os konyhasóoldattal felhígítjuk, pipettával többszörösen felszívjuk az emulsió

egyenletes eloszlása czéljából, majd 2'-ig centrifugáljuk, hogy a nagyobb rököktől az emulsiót megszabadítsuk. Még egyszer 60 C⁰-on sterilizzuk s végül az alább még leírandó módon meghatározzuk a keveréknek a bakteriumtartalmát 1 cm³-ben.

Ha T. R.-tuberculin áll a rendelkezésünkre, akkor az eljárás még egyszerűbb. A tuberculint 60 C⁰-on 1 óráig sterilizzuk, 1⁰/₀ konyhasóoldattal felhígítjuk s 0.25⁰/₀ lysol hozzáadása után a bakteriumtartalmát 1 cm³-ben megállapítjuk.

A staphylococcus-vaccina készítése a következő: 4 cső igen fiatal (24 óránál fiatalabb) agar-agaron tenyésző staphylococcus-culturának egyik csővébe 10 cm³ 1⁰/₀ steril konyhasóoldatot öntünk, a bakteriumokat ennek segélyével a táptalajról leválasztjuk, a konyhasóoldattal emulsióvá keverjük, s az egészet egy másik csőbe öntjük, a hol az előbbi eljárást folytatjuk, majd az egészet a 3. s végül a 4. csőbe öntjük.

Végül tehát 10 cm³ 1⁰/₀-os konyhasóoldatban 4 cső staphylococcus-anyag foglaltatik. Ezt az emulsiót steril kémlecső beöntjük, felül beforrasztjuk, a végét kissé kihúzzuk, 5 perezig rázókészülékbe helyezük, majd meghatározzuk az emulsió bakteriumtartalmát.

Egy rész vért egy rész emulsióval összekeverünk, az egészet 6 rész acid. nitricummal (1.0⁰/₀-os) felhígítjuk, s belőle 1—2 cseppet fedőlemezrel tárgyüvegre felkenünk.

Majd 25—30 látótérben megszámláljuk a vörösvérsejteket és a bakteriumokat. A pontos számlálás elősegítésére ajánlatos, ha az oculár mögé betétet helyezünk, s így csak a centrális részeket vesszük tekintetbe. Ha például 30 látótérben 290 vörösvérsejtet s 555 bakteriumot találunk, akkor ebben a készítményben 5000 vörösvérsejtnak 9569 bakterium felel meg.

Ha 5000 vérsejtnak 9569 felel meg, akkor az emulsió 1 mm³-ében 9.569,000, s az emulsió 1 cm³-ében 9569 millió bakterium foglaltatik.

Wright a legutóbbi időben olyan bakterium-emulsiókat használ, melyeknek 1 cm³-ében 500 millió bakterium van.

A bakterium-emulsiókat körülbelül 30 cm³-cs üvegecskében tartják, melyek gummisapkával vannak elzárva. Mindegyik üvegecskében 25 cm³ 1⁰/₀-os konyhasóoldat foglaltatik 1/2⁰/₀-os carboidattal.

Wright előírása szerint minden egyes köbcentiméternek 500 millió bakteriumot kell tartalmazni.

Az előbbi bakteriumemulsióval például a következőképpen járunk el.

Ha a 25 cm³ konyhasóoldat 1 cm³-ének 500 M (millió) bakteriumot ell tartalmazni, 25k cm³ konyhasóoldatban $500 \times 25 \text{ M} = 12,500 \text{ M}$ -nak kell lenni.

A következő arány állítandó fel:

1 cm³-ben van (emulsio) 9569 M bakterium
x „ 12500 M „

$$x = \frac{12500 \text{ M}}{9569 \text{ M}} = 1.03$$

Tehát 1.03 cm³-ben van 12,500 M bakterium. A további eljárás igen egyszerű; az üvegből kiszívunk 1.03 cm³ konyhasóoldatot s ezt 1.03 cm³ bakteriumemulsióval helyettesítjük.

Most tehát a konyhasóoldat minden köbczentimeterje 500 M bakteriumot tartalmaz.

A konyhasóoldat kiszívása s a bakteriumemulsio bevitele steril fecskendővel végzendő, a szűrési nyílásra 1—2 csepp 150 C⁰-ra felmelegített olivaolajat öntünk. Az ilyen hőfokú olivaolaj ugyanis kitűnően sterilizál s azonkívül a szűrési nyílást is jól elzárja.

Az eljárás legkényesebb része mindenestre a vaccina adagolása. Még a legjáratasabb szakember sem dolgozhat bizonyos séma szerint s nem támaszkodhatik e tekintetben évek hosszú során gyűjtött tapasztalataira, hanem minden egyes új betegen meg kell figyelnie az első inoculatio hatását a szervezet ellenállóképességének tekintetbe vételével.

A vér antibakteriumos erejének mérése teljes vagy részleges lehet.

Wright nézete szerint a teljes mindenestre pontosabb felvilágosítást adna a vér antibakteriumos erejéről, azonban az eljárást túlkomplikálttá tenné; továbbá ki biztosíthat minket arról, hogy már ismerjük az összes antitestféleségeket.

Wright munkáiban több ízben kiemeli, hogy a vaccinás gyógy-mód a vér antibakteriumos erejének partiális mérésén épült fel, s a therapia nincsen az opsoninindexhez kötve.

A serum agglutináló, baktericid stb. hatását is fel lehet használni.

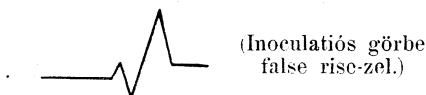
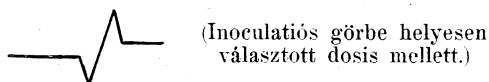
Wright kísérletei alapján azonban kiemeli, hogy a vér antibakteriumos erejének mérésére az opsoninindex meghatározása a legalkalmasabb, mert 1. az opsoninindex az összes immunitási folyamatokban mutat változást, 2. ez a változás igen érzékeny mértékét adja az immunitási reactionnak, 3. ez a változás igen jól fejezhető ki számokban, 4. mert igen nagy számú beteganyagon végzett kísérletei azt mutatják, hogy az opsoninindex emelkedése és esése, továbbá a klinikai kép javulása és rosszabbodása között bizonyos viszony áll fenn.

Wright szerint tehát az opsoningörbe viselkedése a vaccinás therapia mérőzsinórjaként használható fel.

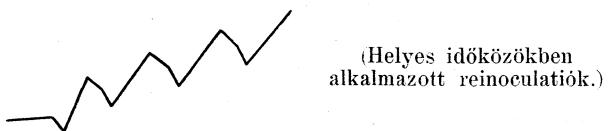
Miképpen kell tehát viselkedni az opsoningörbének helyes adagolás mellett?

Tegyük fel azt az esetet, hogy egy új betegen a helyes dosist eltaláltuk, akkor az opsoningörbe lefutása a következő lesz.

A görbe bizonyos idő múlva a normális alá száll (negatív phasis), megtörténhetik azonban — főleg ha az inoculatio után rövid időre végezünk opsoninvizsgálatot, —, hogy ezt a negatív phasist egy igen rövid életű pozitív phasis előzi meg (false rise, initial rise). A negatív phasis rendszeren már a második napon jelentkezik; a harmadik napon az opsoningörbe emelkedni kezd, s bizonyos idő múlva jóval a normális niveau felett kulminál, majd lassan alászáll, s rendszeren huzamosabb ideig marad a normális niveau felett.



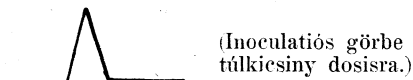
Igen fontos szabály, hogy minden következő inoculatiónál várjuk az opsoningörbe esését.



Igaz, hogy előnyösebb volna, ha az opsoningörbe culminatiójakor adhatnánk a következő inoculatiót, s így két pozitív phasist egymással összekapcsolnánk. Sajnos, ez csak a legritkább esetekben sikerül, úgy hogy praktikus szempontokból nem jön tekintetbe.

Ha egy olyan vaccinadosist adunk a betegnek, a melyik vérét csak igen csekély mértékben befolyásolja, akkor a negatív phasis kimaradhat, s csak a pozitív phasis jelentkezik.

Ilyen esetekben azonban az opsoningörbe nem emelkedik olyan magasra, mint az előbbi esetben, s nem is marad olyan sokáig a normális niveau felett.



Ebben az esetben a betegnek nem ártottunk, mert a következő inoculatiónál a dosist korrigálhatjuk.

Ha azonban nagy vaccinamennyiséget alkalmaztunk, akkor a negatív phasis igen kifejezett s sokáig tartó; a false rise ilyenkor

mindig kimarad, s az opsoningörbe esését rendesen klinikai tünetek is kísérik, melyek többnyire fáradságban s elesettségben nyilvánulnak.



(Inoculációs görbe
túlnagy dosisra.)

Ha túlnagy vaccinamennyiséget vittünk a szervezetbe, akkor a vér bakteriotropikus nyomása több hétre redukálódik s a positiv phasis jelentkezését hiába várjuk.

A negativ phasis alatt semmi szín alatt sem szabad inoculálni; ilyen esetben a negativ phasisok összeadódnak.



(Inoculációs görbe rosszul
választott — negativ pha-
sis — időközökben.)

Wright az új betegeken következőképpen jár el a helyes dosis megállapítása céljából.

Ha 24 órával az inoculatio előtt a beteg opsonin-indexe bizonyos kórokozóval szemben subnormális, s ha 24 órával az injectio után az index még alacsonyabb, akkor az adott vaccinamennyiség túlnagy volt.

Ha azonban a második, az inoculatio után (24 órára) végzett vérvizsgálat azt mutatja, hogy az index emelkedett, s ha ez az index 8—10 nap mulva az injectio előtti niveaujára süllyedt, akkor az alkalmazott vaccinadosis túlkiesiny volt.

Ha azonban az inoculatio után az opsoningörbe csekély esése látható, s ha az index még 8—10 nap mulva is jóval magasabban áll, mint az injectio előtt, akkor a vaccinadosis helyes.

Igen fontos tehát, hogy kis dosissal kezdjünk, s empiriásan alkalmazkodjunk a beteg szervezetéhez.

Wright még arra a téves felfogásra is figyelmeztet, a mely már igen sok balsikernek lett okozójává, tudniillik, hogy az immunitási reactio a következő inoculatiók bakteriummennyiségének fokozatos emelésével nem áll egyenes arányban; nagyszámú kísérlete arra enged következtetni, hogy a vaccinadosisok ilyen progressiv emelése igen kellemetlen következményekkel járhat a betegekre. Az adagok fokozatos emelésével elérkezhetünk ugyanis oly ponthoz, a hol az immunitási reactio felmondja a szolgálatot.

Igen fontos továbbá annak a helynek a megválasztása, a hol a bakteriumtesteket be akarjuk vinni.

Az inoculatiót lehetőleg a beteg terület közelében adjuk. Továbbá, ha a lokálisan képződött védőanyagok olyan úton kerülnek a véráramba, a mely nem vezet a beteg területeken keresztül,

ebben az esetben az antibakteriumos anyagok csak akkor kerülnek a beteg területtel érintkezésbe, ha már az összes vérmennyiséggel keverődtek s így hatásukban tetemesen gyengültek.

Az inoculatio helye tehát úgy választandó, hogy a lokálisan képződött antibakteriumos anyagok útja közvetlenül a beteg területen keresztül vezessen.

Wright az abscessusok és a furunculusok nyílására kötést alkalmaz, melyet előzőleg steril czukor- és natriumacetat-oldatba márt; ez által a sebváladékok megalvadását gátolja meg, továbbá a fokozottabb osmosis-nyomás folytán a nyiroknak a sebüregbe való áramlását elősegíti, s így a friss, még meg nem kötött opsoninoknak az odajutását előnyösen befolyásolja.

Végül megemlítendő még, hogy *Wright* vaccinás therapiájának indicatióit főleg chronikus lokális megbetegedésekben állítja fel (acne, furunculus, sykosis, scrophuloderma s egyéb tuberculosis typusok stb.).

Lokális idült folyamatok ugyanis nem váltanak ki vérreactiót, a serumban nincsenek vagy alig vannak immunopsoninok.

Ilyen esetekben elölt bakteriumtestek inoculálásával az immunopsoninok képződése elősegíthető s egyúttal a kórfolyamat kedvezően befolyásolható.

Wright a vaccinás gyógmód keretében még egyéb kisebb beavatkozásokat is javal. Így például acne, furunculus stb. esetében a beteg képletek feltárását, a kóros anyagok eltávolítását.

Ilyenkor ugyanis a bakteriumok által már megkötött opsoninok kiürülnek s friss serum odafolyását lehetővé teszik. A Bierféle kezelés is igen jó szolgálatokat tesz; a beteg területeken a vérkeringést elősegíti, s azokat friss vérrel illetve friss opsoninokkal látja el.

Wright acut megbetegedésekben ellenjavaltnak tartja a vaccinatiós eljárást, a mely felfogásnak munkáiban számtalanszor ad kifejezést.

Heveny megbetegedésekben ugyanis a szervezetben számtalan mikroba esik széjjel s köt meg opsoninokat; könnyen érthető tehát, hogy ilyen esetekben a vaccinatióval csak a szervezetben keringő endotoxinokat szaporítjuk s a szabad normal és immun opsoninokat megkötjük.

* * *

A mint már fennebb említettem, *Wright* a vér antibakteriumos erejének mérésére nem határozza meg az összes antitestek mennyiségét, hanem kizárólag az opsoninindexet használja fel tájékozódás céljából.

Wright opsonin-technikája igen komplikált s azonkívül több olyan tényezővel kell dolgoznunk, melyeket pontosan lemérni, számokban kifejezni nem tudunk. Kísérleti hibák elkerülése céljából

tanácsos ugyanazon kísérleti anyaggal több meghatározást eszközölni s ezeknek a középértékét tekinteni végeredménynek.

Wright intézetében az egyes meghatározások pontosságát úgy ellenőrzik, hogy ugyanazon kísérleti anyagból az intézetnek legalább két tagja egymástól teljesen függetlenül állapítja meg az indexet, s csakis megegyező vagy igen kis mértékben eltérő eredmények mellett tekintik a nyert értékeket diagnostikai vagy therapeutikai szempontokból felhasználhatónak.

Az opsoninindex meghatározása tehát az egész eljárás kulcsa. Maga a technikai rész Wright és iskolájának munkáiból, egyes újítások kapesán, ismeretes ugyan, de összefüggő egészben sehol sem található meg.

Az alábbiakban az opsonin-technikát szándékozom ismertetni, még pedig teljesen mellőzve mindenféle idegen újítást, tisztán a Wright-intézetben látott eljárás tárgyalására akarok szorítkozni.

Az opsoninindex meghatározásakor szükségünk van: 1. serummentes, vagyis kimosott vörsejtekre, 2. bakteriumemulsióra, 3. beteg (megvizsgálendő) és egészséges vérsavóra.

A vörsejtek praeparálása igen figyelmes bánásmódot igényel. Wright intézetében az illető orvos rendszeren a saját fehérvörsejtjeit használja kísérleteiben; összehasonlító eredmények ugyanis arra engednek következtetni, hogy különböző egyének leukocytái ugyanazon serum és bakterium-emulsió használata mellett igen különböző falóképességet fejthetnek ki. A 24 órán belüli ingadozások elkerülése czéljából ajánlatos a napnak bizonyos órájában vért venni. Jégszekrényben a vörsejtek néhány órára eltehetők, falóképességükből még 4—5 óra múlva sem veszítenek annyit, hogy ez az eljárással érzékelhető volna.

Egy 3—4 cm³-es üvegsövecskébe ennek kétharmad részéig 11¹/₂°/o natrium citricumot tartalmazó 1°/o-os konyhasóoldatot töltünk.

A natrium citricum-oldatot vagy naponta készítjük, vagy teljesen sterilen tartjuk.

Egy londoni czég (Davis and Co.) néhány évvel ezelőtt Wright adatai alapján 1·5 gramm natr. citr.-t tartalmazó pastillák athozott forgalomba. Az utóbbiakkal a dolgozás igen kényelmes, egy ilyen pastillát ugyanis minden kísérlet előtt néhány percczel 100 cm³ 1°/o-os konyhasóoldatban feloldunk.

A natrium citricumos oldat ugyanis igen hamar elromlik, s ilyenkor a fehérvörsejtek falóképességét igen kedvezőtlenül befolyásolja.

1—2 év óta Wright intézetében a 0·85°/o-os konyhasóoldatot az 1°/o-ossal cserélték fel. Wright szerint ebben az oldatban a fehérvörsejtek jobban fejtik ki a hatásukat. A natrium citricum-oldattal ²/₃ részig feltöltött üvegsövecskébe körülbelül 8—10 csepp vért csepegtetünk; minden 2—3 csepp után az ujjunkkal befogott

üvegesöveeskét fel- és aláfordítjuk, hogy a vér a folyadékkal jól összekeverődjék. Rázni nem szabad. Most a véresejtemulsióval telt üvegesöveeske bizonyos időre centrifugába kerül. A centrifugálás időtartama a centrifuga percenkénti forgás-számától s az emulsió sűrűségétől függ.

Szabály az, hogy a véresejtek leülepedése után a centrifugálást rögtön be kell szüntetni. Hosszas centrifugálás mellett ugyanis agglutinálódnak a fehérvéresejtek s a későbbi számolás pontosságát meghiúsítják.

Minden centrifugán (ugyanazon emulsiosűrűség mellett) meghatározandó tehát, hogy mennyi idő alatt tudja a véresejteket leülepíteni.

Nem igen használható olyan centrifuga, mely percenként 3000 forgásnál sokkal többet végez; ebben az esetben ugyanis szintén a fehérvéresejtek agglutinációjától kell tartanunk.

Wright intézetében vízi centrifugát alkalmaznak, mely percenként 2000 forgást végez és nyugodtan működik (Crouch-centrifuga).

Ez utóbbi centrifuga használata mellett a fehérvéresejtek 3 percz alatt ülepednek le.

A véresejtek felett levő folyadékot leszívjuk, 1⁰/₀-os konyhasó-oldattal helyettesítjük, az üvegesöveeskét 2—3-szor fel- s aláfordítjuk az emulsió alapos összekeverése czéljából s addig centrifugáljuk az emulsiót, a míg a véresejtek *éppen* hogy leülepedtek. Ebben az esetben természetesen, a hol a serumot 1⁰/₀-os konyhasó-oldat helyettesíti, rövidebb ideig kell centrifugálni.

Azelőtt Wright és tanítványai a vörösvéresejtek felszínét borító hártýát, a leukocyták tömegét használták fel kísérleteikben. Tekintettel arra, hogy ennek a hártýának a képződése nem mindig kifejezett, újabban a leülepedett vért magát használják fel. Az utóbbi módosítással 150—200 polynucleáris leukocytát magam is igen könnyen számolhattam meg egy készítményben.

A *bakteriumemulsió* készítése szintén kardinális pontja az eljárásnak. A „phagocytic count“, vagyis a phagocyták által bekebelezett mikrobák száma sejtenként ne legyen több 3-nál (normális serum behatása alatt), sőt a tuberculosisbacillusnál ez a szám is lehetőleg 1·5—2·0-ra redukálendő.

Néhány évvel ezelőtt az utóbbi számok a tuberculosis-bacillusnál még ki voltak tolva 2—4-ig, egyéb mikrobáknál 5—8-ig.

Számos ilyen irányú kísérlet a mellett szól, hogy kisebb számú bekebelezett bakterium számolásakor állandóbb eredményeket kapunk. Igen sűrű emulsió esetén megtörténhetik ugyanis, hogy 1—1 leukocytában olyan közel fekszenek egymáshoz a bakteriumok, hogy a pontos számolást lehetetlenné teszik.

A tuberculosisbacillusok emulgálásához azelőtt a leghöchsti festékgyárból való, a tuberculin előállításakor visszamaradt száraz

bacillustesteket használták, ezeket 1·5⁰/₀-os konyhasóoldat néhány cseppjével sűrű emulsióvá dörzsölték, majd felhígították, centrifugálták s a csövecskék alsó részében leülepedett rögök felett levő opaleszkáló folyadék felső részét leszívták, 30'-ig 60 C⁰-on sterilizálták s használatig steril üvegcsövecskébe eltették.

A legutóbbi időben ezt az eljárást egyszerűsítették az által, hogy most már gyári produktumoktól teljesen függetlenül dolgozhatunk, a mennyiben az emulsió elkészítéséhez csupán emberi tuberculosisbacillus-culturára van szükségünk.

Az eljárás a következő: Glycerines bouillonban tenyésztett háromhetes tuberculosisbacillus-culturát megfiltrálunk, a filterpapíron maradt bacillustömeget 37 C⁰-on megszáritjuk s porcellánmozsárban kissé széjjeldörzsöljük. Majd megfelelő üvegedénykébe téve autoklavban sterilizzuk s elteszszük.

A mikor pedig tuberculosisemulsiót akarunk készíteni, ebből a tuberculosisbacillus-készletből igen kis mennyiséget egy erre a célra készített üvegmozsárba helyezünk (Cuplan-Haydkins, emulsió mill., Angus & Co. londoni cégénél, Wigmorestr. kapható; kitűnően használható bakteriumtömegek széjjeldörzsöléséhez; szép praecisiós munka, nagy hátránya azonban, hogy igen drága) s 1—2 csepp 1·5⁰/₀-os konyhasóoldat hozzáadása után erősen dörzsöljük. Ez a keverék addig dörzsölendő, a míg kissé átlátszóbbá lett, ekkor 1—2 cm³ 1·5⁰/₀-os konyhasóoldatot adunk még hozzá.

Az egész keveréket egy nagyobb kaliberű pipettában többször felszívjuk, majd kis kémcsőbe öntjük s 2'-ig centrifugáljuk (Crouch-f. centrifuga, 2000 forgás percenként), míg a nagyobb rögök leülepedtek. A bakteriumtörmelék leülepedése után a még igen sűrű emulsiót lepipettázzuk s 7—10'-ig centrifugáljuk. A centrifugálásra természetesen itt sem lehet bizonyos időtartamot megállapítani. Addig kell centrifugálnunk, a míg a normális serum hatása alatt a phagocytázis-index 1·5—2·0. (A phagocytosis minden kísérletben 37 C⁰-on 15'-ig történik; lásd később.)

Az emulsiónak mindig a felső ²/₃-a használandó csak, igen ajánlatos még az emulsió felszínét is lepipettázni, mert néha itt is találkozhatunk bakteriumtörmelékkel. Ilyen bakteriumemulsió sterilen eltéve igen sokáig használható, használat előtt azonban az emulsiót többször fel kell szívni vagy néhány percre rázókészülékbe helyezni.

Más bakterium előkészítése egyszerűbb.

Fiatál agarculturából (a coli-csoportba tartozó bakteriumok és a Gram-negatív coccusok életkora 4—10 órás, a Gram-positivoké 24 órás legyen) platinkacsnyi mennyiséget 1⁰/₀-os konyhasóoldat 2—3 cseppjével kis óraüvegben egy erre a célra

elkészített, a végén legömbölyített üvegrúddal 2'-ig erősen dörzsölünk, majd successive addig adunk hozzá 1⁰/₀-os konyhasóoldatot az emulsio folytonos keverése mellett, míg az 1 kacsnyi mennyiséget (2 mgm.) körülbelül 1¹/₂ cm³-nyi konyhasóoldatban suspendáltuk. Az egész keveréket azután többször felszívjuk egy nagyobb caliberű pipettába.

Igen ajánlatos az emulsiót körülbelül 1/2 órára rázókészülékbe helyezni, hogy a bakteriumok összetapadását lehetőleg elkerüljük.

Majd kis kémlecsőbe öntjük az emulsiót s 4 percig centrifugáljuk (Crouch-centrifuga), az emulsio legfelső részét lepipettázzuk s elöntjük (itt is, mint a tuberculosis-emulsiónál, bakteriumtörmelékkel találkozhatunk, mely az index meghatározásában zavarhat), majd az emulsio felső 1/3-át lepipettázzuk, kisebb steril kémlecsőbe öntjük s a kísérlet megkezdéséig elteszszük. 1/2⁰/₀-os phenol hozzáadása mellett ilyen bakteriumemulsio húzamosabb ideig használható.

Minden emulsio készítésekor meg kell győződnünk, hogy az emulsio megfelel-e a fentemlített követelményeknek. Ha a phagocytálási szám nagyobb háromnál, akkor addig centrifugálunk, míg ezt a számot körülbelül elértük.

Az emulsio makroszkopos megtekintésekor sem szabad elfelejtenünk, hogy a bacillusemulsiók sokkal koncentráltabbnak tűnnek fel, mint a coccusemulsiók; az utóbbiak igen gyengén opaleskálnak.

Végül még igen fontos, hogy lehetőleg egyenlő életkorú mikrobákkal dolgozzunk s lehetőleg egyenlő összetételű táptalajon tenyészszük őket; ez utóbbi tényezőknek ugyanis nagy befolyásuk van a phagocytosira s a bakteriumok festékfelvételére.

A megvizsgálandó serum nyeréséhez szükséges vér egy erre a célra meggörbített üvegcsővecskében fogandó fel; az üvegcsővecske kétoldalt 5—6 cm. hosszú capillariban végződik.

A beteget felszólítjuk, hogy néhány percig rázza a kezét, azután kaucsukszalaggal valamelyik ujját a phalango-metaphalangealis ízületől a distalis vége felé leszorítjuk s a Wright-féle meggörbített csővecske egyenes szárának láng felett kihúzott végével az ujjat a köröm közelében megsúrjuk, majd a kihúzott szár végét letörjük s a cső meggörbített végét a vérző felületre helyezzük. A vér most az üvegcsővecske tágabb részeibe ömlik. Ha kellő mennyiségű vért kaptunk, akkor a csővecske egyenes szárát néhányszor a láng felett elhúzzuk, majd beforrasztjuk. Lehűlés után ugyanis a levegő összehúzódik, a minek következtében a vér a meggörbített részből a csővecske tágabb részébe kerül.

Nagyon kell vigyázni arra, hogy az egyenes szár melegítésekor ennek centrális végét ne hevítsük túlságosan, mert ebben az esetben a később behúzódó vér megpörkölődik s a serum használhatatlan lesz.

A vér megalvadását siettethetjük, ha a vért tartalmazó csővecskéket az „Opsonizer“-be tesszük. (Vizfürdő, állandóan 37 C°-ra beállítva, 20—30 nyílás van az oldalán, a melybe a csővecskék kerülnek. Előnye a thermostattal szemben, hogy a csővecskék gyorsabban melegednek fel 37 C°-ra s hogy igen kis helyet foglal el; a dolgozóasztal egyik sarkában is könnyen elfér s aránylag olcsó). Igen kell ügyelni arra, hogy a vér csakugyan megalvadjon; főleg hidegebb időben történhetik meg, hogy a vérsejtek leülepednek, a nélkül, hogy a vér megalvadt volna. Ha ilyenkor serum helyett plasmát veszünk, akkor a megalvadás kísérlet közben következhetik be.

Wright intézetében az opsoninindex meghatározása olyképpen történik, hogy két vagy több intézetbeli orvos serumát összekeverik s az utóbbi serum opsoninértékét a kérdéses serum opsoninértékével összehasonlítják.

Nem igen tanácsos csak egy ember serumát controllserumnak használni, mert Wright és mások minden kétséget kizárólag bebizonyították, hogy ugyanazon egyén serumának opsoninaktivitása a nap különböző óráiban igen különböző lehet. Minél több serumot keverünk össze, annál több reményünk lehet arra, hogy megközelíthetjük az ideális normál- (controll) serumot.

A midőn ezt a három tényezőt: a mosott vérsejteket, a bakteriumemulsiót és a serumokat használatra elkészítettük, az utóbbiakat az említett sorrendben a már fentebb leírt pipettába gummisapka segítségével felszívjuk; az egyes tényezők között csekély légréteg hagyandó.

Lehetőleg egyenlő pipettákat készítsünk.

A pipettába felszívott emulsióban a vérsejtek és a bakteriumok suspendálva vannak; igen természetes, hogy az utóbbiak a thermostatban néhány percnyi állás után a pipetta falára ülepednek. Ez a pipetta bármilyen elhelyezésével sem kerülhető el.

Minél nagyobb a pipetta kalibere, annál nagyobb réteget alkotnak a suspendált anyagok a pipetta falán s annál kevesebb alkalom nyílik a réteg alsóbb részeiben fekvő phagocytáknak és bakteriumoknak a réteg felett helyet foglaló serummal érintkezni. Pedig Wright alapvető kísérleteiből tudjuk, hogy a serum jelenlétének milyen fontos befolyása van a phagocytálási indexre.

Wright intézetében 5 mm. vastagságú üvegsőveket használnak ilyen pipetták készítésére. Igen kell vigyázni arra, hogy a pipetta túlvékony vagy túlvastag ne legyen; legjobb, ha a kihúzott része 16 cm. hosszú s a vége 1½—2 mm. vastagságú.

A pipetták végére gummisapka illesztendő; a sapkába kis lyukat furhatunk, hogy a sapka levevésekor és feltevésekor a pipetta tartalma a sapkába ne ürüljön.

A serum pontos lemérésére igen nagy súly helyezendő; erre

vonatkozó kísérletek azt mutatták, hogy a bakterium- vagy a vérsajt-emulsió hibás lemérése korántsem ad olyan nagy eltérést a végeredményben, mint már igen kis hibaforrás a serum lemerésében.

Majd az egészet vájt tárgyuveg mélyedésébe többször kiüritjük s ismét felszívjuk (Wright utasítása értelmében legalább 10-szer) s az utolsó felszívás után a pipetta végét beforrasztjuk (a vért ilyenkor természetesen a pipetta felsőbb részeibe szívjuk) s az opsonizerbe helyezzük. Igen fontos, hogy a pipettát beforrasztása után rögtön az opsonizerbe tegyük (a spontán phagocytosis elkerülése czéljából) s hogy az időt úgyszólván másodpercze megállapítsuk. *Wright* minden egyes alkalommal hangsúlyozza, hogy a tévedések túlnyomó része ebben az irányban történik. Ha ugyanazon anyag több próbáját ilyen értelemben megvizsgáljuk, akkor kitűnik, hogy a néhány másodpercczel tovább időzés az opsonizerben már ez eljárással érzékíthető differentiákat ad.

Az összes pipetták tehát egyforma ideig tartandók az opsonizerben kivételük után a tartalmuk az alább leírandó módon rögtön tárgyuvegre kenendő.

A kísérleti anyagnak az opsonizerben való tartása az idő tekintetében a bakteriumok szerint különböző. A coli-csoportba tartozó bakteriumok és a Gram-negatív coccusok 8—10 perczig (tovább semmi esetre sem), a tuberculosishacillusok s egyéb mikrobák 15'-ig hagyandók az opsonizerben.

A meghatározott idő eltelte után a pipettákat az opsonizerből kiveszszük, tartalmát vájt tárgyuveg mélyedésébe üritjük (itt is olyan gummisapkát használunk, a melybe előzőleg kis lyukat fúrtunk, hogy a pipetta beforrasztott végének letörése után a kísérleti anyag a sapkába ne kerüljön negatív nyomás keletkezése folytán; a folyadéknak a pipettából való kinyomása alkalmával ezt a kis nyílást hüvelykujjunkkal befogjuk), néhányszor felszívjuk s kiüritjük, majd az utolsó felszívás után belőle egy már erre a célra elkészített tárgyuvegre 1—2 cseppet üritünk.

A tárgyuvegek elkészítése a következő:

Aetheres alkohol-ban (aa) megtisztítjuk őket, majd Bunsen-láng felett néhányszor áthúzzuk s igen finoman szemesézett csiszoló-papirossal alaposan megdörzsöljük.

Igen fontos továbbá, hogy az üveg convex oldalán dolgozzunk; a concav oldalon jó praeparatumot soha se kaphatunk. Közvetlenül a felkenés előtt a már így elkészített tárgyuveget puha, de szövetszalakat el nem hagyó ruhával megtöröljük, hogy a kísérlet közben reáarakódott portól vagy csiszolópapirszemcséktől megszabadítsuk, a melyek az anyag jó felkenését teljesen megghiúsíthatnák.

Az anyag felkenését egy a közepén kettétörött tárgyuveggel, úgynevezeti „*spraeder*“-rel végezzük. Az ilyen *spraeder* elkészítése nagyobb gyakorlatot igényel.

Kiválasztunk néhány igen vékony tárgyüveget, a középén üvegráspolylyal megkarczoljuk és kettétörjük; ha ez a művelet sikerült, akkor az egyik fél-tárgyüveg törési éle kissé concav, a törési él pedig egész hosszában sima. Majd a törési él két sarkát üvegráspoly segítségével eltávolítjuk.

Megtörténhetik néha, hogy a teljesen kifogástalannak látszó spraeder néhány trial-trip (próbafelkenés) készítése után teljesen hasznavehetetlennek bizonyul.

Kezddőnek igen ajánlatos jó spraedert beszerezni, mert sikertelen munka esetén nem tudhatja, vajjon az anyag felkenésében vagy a spraeder elkészítésében hibázott-e? Wright azért ragaszkodik a spraeder használatához, mert ha a műveletet közönséges tárgyüveg élével végezzük, akkor a fehérvérsejtek a praeparatum egész terjedelmében széjjel vannak szórva, míg jó spraeder használata mellett gyakorlott kéznek majdnem mindig sikerül a kerek s a nagyobb leukocyták a tárgyüveg egyik oldalára áthúzni és így a kisebb vörösvérsejtektől izolálni. Ha a praeparatum jól sikerült, akkor a felkenés körülbelül egy a tárgyüveg hossz tengelyére haránt vonalban végződik; e haránt vonal hosszában találhatók a leukocyták.

Ezekből érthető, hogy a jól készített praeparatum nagy időmegtakarítást jelent.

A felkenés következőképpen történik: A jól letörült tárgyüvegre 1—2 cseppet adunk a vizsgálati anyagból (a felkenésnek a tárgyüveg utolsó $\frac{1}{3}$ -ában kell végződnie, nem szabad tehát az anyagból túlsokat venni, különben az anyag legértékesebb részének, a leukocytáknek nem marad hely a tárgyüvegen) s a spraeder homorú élével olyan mozgásokat végzünk, hogy az anyag a spraeder élének egész hosszát ellepje, majd 40—50 foknyi szög alatt az anyagot igen gyenge egyenletes nyomás mellett a tárgyüvegre kenjük.

A tuberculosibacilluson kívül igen egyszerű a bakteriumok festése. A tuberculosibacillusok festése a következő: 2'-ig fixáljuk a praeparatumot methyalkoholban, 2'-ig festjük *kissé* felmelegített carbol-fuchsinban, 2'-ig dekoloráljuk 2·5%-os kénsavoldatban s 1—2'-ig festjük methylenkékkel.

Carbol-fuchsinnal nem szabad sokáig s nem szabad igen melegen festeni (az irodalomban található sikertelen kísérletek egy része erre a körülményre vezethető vissza), mert ilyenkor megtörténhetik, hogy a sokáig alkalmazott vagy a túlmeleg festék a fehérvérsejtek burkát megpukkasztja s a tuberculosibacillusok mintegy kiesnek a fehérvérsejtekből.

Az utóbbi körülmény nagy zavarokra adhat alkalmat a phagocytálási szám megállapításában, mert némely esetben nem

tudhatjuk, hogy phagocytálódott-e a bacillus, vagy csak hozzátapad a leukocytához.

Esetleg 4⁰/₀-os eczetsavoldattal eltávolíthatjuk a vörösvérsejteket, hogy a számoláskor zavarólag ne hassanak; az utóbbi művelet azonban csak akkor ajánlatos, ha a készítmény kifogástalanul sikerült.

Egyéb bakteriumok festésekor a készítményt néhány perczig telített sublimatoldattal fixáljuk, majd 2 — 3'-ig carbolthioninoldattal festjük.

A fehérvérsejtek és a bennük foglalt bakteriumok megszámlálása mindenesetre az egész technika legkényesebb része. Az objectivitás minden tekintetben megőrzendő.

Wright intézetében a legutóbbi időben 100 polynucleáris leukocytát számolnak meg; néhány évvel ezelőtt csak 20-at számoltak meg. Úgy látszik azonban, hogy még Wright sem kapott ilyen csekély számú leukocyta megszámlálásával kielégítő eredményt.

Csak a polynucleáris leukocyták veendő figyelembe. A lymphocyták normális viszonyok mellett nem phagocytálnak. A leukocyták megszámlálásakor a következőkre kell figyelniük: az agglutinálódott leukocytákat el kell hanyagolnunk, továbbá nem szabad olyan leukocytákat tekintetbe venni, a melyeken magoszlási productumok a pontos számlálást megnehezítik. A rosszul festődő coccusokat magukba záró leukocytákat szintén el kell hanyagolni, sőt azokat is, melyeknél nem tudunk biztosan meggyőződni arról, hogy a bakteriumok a sejten belül vagy kívül fekszenek-e.

Ha 100 leukocytában megszámláltuk a bakteriumokat, akkor a phagocytálási számot s később az opsoninindexet igen könnyen megállapíthatjuk.

Ha a bakteriumok számát elosztjuk a phagocytáló leukocyták számával, megkapjuk a *phagocytálási számot* (phagocytic count). Ha a beteg phagocytálási számát elosztjuk az egészségesével, megkapjuk az *opsoninindexet*.

DEBRECENI EGYETEMI KÖNYVTÁR

3709 / 1959