

## PROBLEMA ALERGIEI ȘI A IMUNITĂȚII IN TUBERCULOZA EXPERIMENTALA ACȚIUNEA ALERGIZANTĂ A BACILILOR ACIDOREZISTENȚI SAPROFITI

László Ioan, Dr. Szentkirályi E. și Monoki Ștefan.

O problemă importantă a imunologiei moderne o constituie clarificarea relației dintre alergii și imunitate. Datele din literatură nu reflectă o concepție unitară asupra imunității față de tuberculoză. În anul 1891 R. Koch demonstrează în experiențele sale, că organismul tuberculos, într-un grad oarecare, este imun față de o superinfecție exogenă.

Lange și Neufeld consideră imunitatea înăscută ca factor primordial al imunității antituberculoase. Römer și Selter explică imunitatea antituberculoasă pe baza stării alergice. Imunologii și fiziologii sovietici (Zdrodovski, Speranski, și a.) au jucat un rol important în elucidarea mecanismului nervos al alergiei. Fiodorov a demonstrat că punctul de acțiune al antigenelor în organism îl constituie în primul rând terminațiile nervoase, în al doilea rând elementele S.R.E. și țesutul conjunctiv activ. În cazul utilizării excitațiilor antigenice repetate, caracterul reflexelor produse pe calea hemoreceptorilor se schimbă și intervin tulburări funcționale grave.

Arima a preparat un vaccin, care nu avea proprietăți alergizante, în schimb avea o acțiune imunizantă satisfăcătoare. Sub acțiunea vaccinului BCG organismul devine sensibil față de tuberculină, însă această sensibilitate nu corespunde gradului imunității. E. Helmert a putut obține o imunitate corespunzătoare și cu bacili omorâți. R. Koch a inoculat repetate rinduri bacilul Mycobacterium tuberculosis (Mt) pe cale intraperitoneală (i. p.) la ciini, fără ca animalele să fi pierit de tuberculoză.

Primele încercări de imunizare cu bacili acidorezistenți saprofizi se leagă de numele lui Mafucci, V. Babeș, Doremberg, Courmont și Dor. Möller în experiențele sale efectuate cu Mycobacterium phlei (Mp) a constatat că inocularea acestui bacil conferă o oarecare imunitate, însă nu împiedică progredierea procesului tuberculos. Experiențele lui Klempner, efectuate cu bacili acidorezistenți saprofizi, au dat rezultate similare.

Scopul experiențelor noastre a fost de a cerceta dacă starea alergică produsă de un oarecare bacil acidorezistent saprofit, poate, sau nu, să aere organismul împotriva unei infecții tuberculoase, precum și de a examina relația dintre gradul reacțiilor alergice și imunitate. Dintre bacilii acidorezistenți saprofizi am ales Mycobacterium phlei (Mp) bacil descoperit de Möller pe ierburile Alopecurus pratensis și Bromus erectus, în 1898. Deoarece noi n-am avut această tulpină, a trebuit să o izolăm de pe plantele amintite, după metoda lui R. E. Gordon și W. A. Hagan. Izolarea bacilului am efectuat-o pe medii de cultură Ashby, Söhngen, Dorset și Conn. Bacilul Mp, astfel obținut l-am trecut apoi pe mediu Löwenstein, unde după 1—2 zile apare o cultură abundentă, sub aspectul unei false-membrane de culoare galbenă-portocalie.

Experiențele efectuate în legătură cu acțiunea patogenă a bacilului Mp. au dat rezultate discordante. În experiențele lui Möller o parte dintre animalele inoculate i. p. au pierit curând după inoculare, pe cînd o altă parte, slabind în greutate, au pierit după câteva săptămîni. Autorul a găsit în ficatul, peritoneul și plămîni animalelor decedate niște noduli albicioși. Laporte a constatat că Mp. inoculat împreună cu hidrocarburi provoacă un tablou clinic asemănător cu tuberculoza umană. Lange, apoi Boquet și Nègre au găsit că bacilii paratuberculoși produc paratuberculine, care provoacă la persoanele și animalele bolnave de tuberculoză o reacție similară tuberculinei

veritabile, pe cînd animalele inoculate cu bacili paratuberculoși, prezintă o reacție intens pozitivă față de tuberculina veritabilă. După părerea lui *Hauduroy* animalele inoculate cu Mp reacționează foarte slab la tuberculina veritabilă.

Experiențele noastre au fost efectuate timp de doi ani pe cobai. Am inoculat animalele pe următoarele căi: subcutan (s. c.) în jurul nodurilor limfatici, intradermal (i. d.) în jurul nodurilor limfatici sau intraperitoneal (i. p.). Animalele le-am sensibilizat printr-una din metodele sus amintite, cu o suspensie de cultură de Mp. obținută de pe mediul Löwenstein, apoi am provocat reacția alergică printr-o a doua inoculare. Infectarea animalului am efectuat-o după obținerea stării alergice, iar în alte cazuri după provocarea reacției alergice. Am urmărit perioada de la inocuarea de sensibilizare pînă la reinjectare, de la reinjectare pînă la infecție și de la infecție pînă la decesul animalului. În tabel, inocuarea de sensibilizare, a fost notată cu Nr. I, reinjectarea cu Nr. II.

*Prima serie de experiențe.*

Inocularea Nr. I: Mp, 0,5 cc, în jurul nodurilor limfatici.

Inocularea Nr. II: aceeași.

Infectarea: Mt, tulpina Ratti 0,5 cc, în jurul nodurilor limfatici.

Timpul dintre inoculări exprimat în zile	Numărul animalelor						
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Timpul de la prima inoculare pînă la a II-a	30	17	inoculare de sensibilizare și infectare			16	16
Timpul de la a II-a inoculare pînă la infecție	14	30	efectuate simultan și repet. după 14 zile			—	14
Timpul de la infecție pînă la moartea animalului	207	42	47	65	131	27	84

Cu ocazia celei de a doua inoculări am constatat reacții locale pronunțate. Cu cit am infectat mai devreme animalul față de a doua inoculare, cu atît a supraviețuit mai mult (cu excepția animalului Nr. 6, care a decedat după a doua inoculare). Sensibilizarea și infectarea animalelor Nr. 3, 4, 5 s-a făcut simultan, apoi după 14 zile am provocat reacția alergică. Durata supraviețuirii acestor animale este în medie de 81 zile, socotite de la infectare. În cursul examinărilor histo-patologice s-a putut constata alterația profundă a ficatului, în cazurile cînd animalele au decedat tirziu după inoculare (vezi animalele 1, 5, 7), precum și tuberculoza splinei, cu caracter productiv. Cu excepția animalului nr. 1, în splină și ficatul animalelor am constatat hiperemie, mici hemoragii și în splină o hemosideroză evidentă. În afară de acestea, în organele fiecărui animal s-au găsit leziuni specifice cu caracter productiv, cu celule epiteloide și celule gigante de tip Langhans. Apariția acestora din urmă se consideră fără îndoială ca o reacție alergică. În organele tuberculoase am găsit de multe ori noduli necrotici, fibrinoizi, fără ca această necroză să fi avut un caracter cazeos. Mulți autori consideră această formă a necrozei, descrisă de V. Babeș, ca un fenomen alergic, deoarece niciodată nu s-au găsit agenți patogeni într-o astfel de leziune. În ficatul animalului nr. 1, care a decedat la 207 zile după infectare, am găsit o intensă proliferare a canalelor biliare. Splina animalului nr. 6, care a pierit la 27 zile după provocarea reacției alergice, a arătat o hemosideroză pronunțată.

A 11-a serie de experiențe

Inocularea Nr. I: Mp. i. p. 0,5 cc.

Inocularea Nr. II: aceeași.

Infectarea: Animalele Nr. 1 și 7 Mt Ratti 0,5 cc. în jurul nodurilor limfatici.

Animalele Nr. 8 și 11 Mt Ratti 0,5 cc. i. p.

Timpul dintre inoculări exprimat în zile	Numărul animalelor										
	Grupa A		Grupa B					Grupa C			
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
De la I. inoc. p. la a II. inoc.	30	30	sensibilizare					12	12	12	12
De la II. inoc. p. la infect.	21	14	21	30	30	30	30	14	14	14	14
De la infect. p. la moart.an.	83	89	87	63	65	88	149	11	27	35	38

Animalele din cele trei grupe în cursul experiențelor au avut o comportare deosebită. Animalele din grupa A. și C. au fost infectate cu 0,5 cc. suspensie Mt Ratti la 2—3 săptămâni după provocarea reacției alergice cu tulpina Mp. Infectarea animalelor din grupa A am efectuat-o s. c., iar a celor din grupa C i. p. La animalele din grupa B, la 3—4 săptămâni după sensibilizarea cu Mp, am provocat reacția alergică simultan cu infectarea efectuată cu tulpina Ratti. Aceste animale au supraviețuit după infectare în general tot atâtea zile ca și animalele din grupa A. Moartea rapidă a animalelor din grupa C se explică prin infectarea intraperitoneală. La autopsia animalelor din grupa A am găsit o ascită abundentă, iar ficatul l-am găsit mărit, având suprafața galbenă-verzuie și o consistență dură. Splina a avut de asemenea dimensiuni apreciabil mărite. Din punct de vedere histopatologic, animalele din grupa A și B, infectate s. c., au prezentat aproape aceleași leziuni. În ficat și splină am găsit noduli de necroză fibrinoasă, pe lângă proliferația productivă difuză sau nodulară a țesutului de granulație, vizibilă pretutindeni. Ca și în prima serie de experiențe, și aici am găsit în ficatul animalelor, care au trăit timp mai îndelungat, o infiltrație specifică a țesutului conjunctiv periportal, apoi o proliferație abundentă, similară tabloului histopatologic al cirozei, paralel cu proliferația canalelor biliare. La acele animale, la care procesul se apropie cel mai mult de tabloul histopatologic al cirozei, am găsit cea mai pronunțată proliferație a canalelor biliare, asemenea unei proliferații neoplazice. În splinele celor două grupe de animale se distinge o hiperemie inegală, hemoragii și hemosideroză. Animalele din grupa C, care au pierit curând după infectare, au suferit aproape fără excepție de tuberculoza splinei, de tip productiv. La aceste animale tuberculii de tip productiv apărui în timpul scurt scurs de la infecție dovedesc fără îndoială, ca animalele în momentul infecției erau sensibile față de agentul patogen. Infiltrația periportală găsită la animalele pierite de timpuriu, nu are de loc un caracter specific, această infiltrație devine apoi treptat specifică prin apariția celulelor epiteloide. Caracterul specific este cu atât mai pronunțat, cu cât a trecut mai mult timp de la infectarea, până la moartea animalului. În legătură cu sensibilizările efectuate cu bacilul Mp am constatat, ca acelea are o acțiune alergizantă evidentă, care însă nu conferă imunitate animalelor față de infecția i. p. cu Mt Ratti.

Un fenomen foarte interesant constată și de noi este apariția cirozei hepatice în cursul tuberculozei experimentale. Löwenstein făcând autopsia animalelor injectate cu Mt omorite și sucombate în urma unei reinjecții, a constatat o ciroză de o gravitate neîntâlnită în tuberculoza umană. După părerea lui Löwenstein în acest caz e vorba de o formă specială a imunității, care nu tinde spre distrugerea microbilor, ci împiedică acțiunea lor patogenă pe o cale încă necunoscută. În legătură cu acest proces apare ciroza hepatică. Cu cât infecția primară este mai veche, cu atât este mai probabilă apariția cirozei. Jeney a constatat că la animalele inoculate cu Mt saponificat sau cu extract de ficat, dacă animalele nu mor în urma șocului ivit, se dezvoltă alte-rații caracteristice. Aproape întreaga structura histologică a ficatului se transformă și

se produce o proliferație intensă a canaliculelor biliare. Sinusurile lienale se măresc pînă la maxim, apar hemoragii, care în cursul examenului histo-patologic se traduc prin hemosideroza constatată. *Jeney* atribuie acest fenomenul acțiunii alergizante a ficatului. Simptomele hepatice și lienale constatate în cursul experiențelor noastre se explică în felul următor: organismul sensibilizat prin *Mp* descompune *Mt*, introdus cu ocazia reinjecției și tuberculo-proteinele astfel eliberate produc simptomele șocului, care poate fi diagnosticat numai postmortal, prin secțiunea splinei (hiperemie paracelulară, hemoragii, hemosideroză etc.). Acest fapt îl demonstrează animalul nr. 8 din grupa C, care a decedat la 8 zile după infectare și în organismul căruia n-am găsit leziuni specifice, însă reacțiile alergice ale țesuturilor au fost cu atât mai pronunțate. Dacă în legătură cu infecția apare o reacție alergică maximă, pe lângă simptomele lienale amintite se constată și necroze. După aceste fenomene și în parte paralel cu ele se constată și simptomele inflamației specifice. După observațiile noastre, în ficat apare mai întîi edemul periportal și infiltrația nespecifică a trigonurilor lui Kiernan. Cu apariția celulelor epiteloide, această infiltrație devine cu timpul specifică. Acest țesut granulomatos arată o proliferație difuză și provoacă transformarea cirotică a ficatului, paralel cu proliferația canaliculelor biliare.

#### A III-a serie de experiențe.

Inocularea Nr. I: *Mp. i. d. în jurul nodulilor limfatici 0,5 cc.*

Inocularea Nr. II: aceeași.

Am inoculat 5 animale, dintre care unul a decedat la 10 zile după inoculare. Diagnosticul histo-patologic: distrofie hidropică, hiperemie pasivă, edem lienal. Un alt animal a decedat la 12 zile după inoculare. Examenul histo-patologic arată o hemosideroză generalizată, care denotă o leziune vasculară alergică petrecută cu puțin înainte. În acest caz constatăm o formă gravă hemoragică a reacției alergice în legătură cu reinjecția *Mp*, ceea ce demonstrează acțiunea alergizantă a bacilului *Mp*. Celelalte animale n-au decedat.

#### A IV-a serie de experiențe.

Inocularea Nr. I: *Mt Ratti 0,3 cc. i. d. în jurul nodulilor limfatici.*

Inocularea Nr. II: aceeași.

Infectarea: *Mt Ratti 0,5 cc. i. d.*

Timpul dintre inoculări exprimat în zile	Numărul animalelor					
	1	2	3	4	5	6
De la I. inoculare p. la a II. inoc.	30	14	14	14	14	14
De la a II. inoc. pînă la infect.	14	11	14	14	14	14
De la infect. p. la moartea anim.	95	13	13	32	49	63

În cursul sensibilizării și reinfecției cu tulpină *Ratti* apare o veritabilă alergie tuberculoasă, care apară ulterior animalele infectate, în general timp de 14 zile. Experiențele efectuate în legătură cu virulența tulpinii *Ratti* arată, ca acest bacil omoară animalele infectate în decurs de 5—6 săptămîni. Am avut însă și cazuri, în care animalele au decedat după 3 săptămîni. Am efectuat această serie de experiențe pentru a examina simptomele histo-patologice alergice, care se produc în legătură cu alergia tuberculoasă veritabilă. Leziunile histo-patologice corespund cu totul leziunilor afiate la animalele sensibilizate cu *Mp* și infectate ulterior cu tulpina *Ratti*. În ficatul animalului nr. 1, am constatat de asemenea o transformare cirotică și proliferația canaliculelor biliare, ceea ce se explică prin faptul că animalul a supraviețuit relativ timp îndelungat (96 zile). Animalele nr. 2 și 3 au decedat la 13 zile după infectare. În organele lor n-am găsit leziuni specifice, cu atât mai pronunțate însă au fost reacțiile alergice tisulare.

#### A V-a serie de experiențe.

Inoculare: *Mycobacterium phlei* și Tween 40 i. p. 0,3 cc.

Pe baza cercetărilor lui Laporte unele hidrocarburi au o acțiune activantă asupra bacililor acidorezistenți saprofiți. Deoarece esterele unor oleocazi sprijină creșterea *Mycobacteriilor*, ne-am propus să examinăm cu influențază esterul acidului palmitic, Tween 40 (polyoxyaethylen sorbitmonopalmitat) patogenia bacilului Mp.

Am inoculat trei cobai cu Mp + Tween 40, dintre care primul cu un amestec de Mp + Tween 40, al doilea și al treilea cu o emulsie de Mp + Tween 40 emulsionată timp de 48 ore în agitator electric. Primul animal a pierit la 3 săptămâni după inoculare. Examenul histo-patologic a arătat: pleurită fibrinoasă, intumescența septică a splinei, distrofia adipoasă a ficatului. Examenul bacteriologic a pus în evidență bacili-acidorezistenți în splină și plămâni. Al doilea animal a decedat la 139, iar al treilea la 156 zile după inoculare. Cu ocazia emulsionării în agitator electric, bacilul Mp din suspensia de un luciu mătăsoș a suferit o alterație atât de intensă, încât numai după mai multe luni a fost capabil să provoace leziuni. Ficatul acestor două animale a arătat la examenul histo-patologic o transformare cirotică, pe cînd în celelalte organe am găsit o tuberculoză productivă. Deci în cazurile noastre, sub acțiunea activantă a Tween 40, bacilul apatogen saprofit Mp a provocat un tablou similar tuberculozei. Leziunile histo-patologice provocate pe de o parte de Mt veritabil, iar pe de altă parte de Mp activat, adică devenit patogen, sînt aproape identice, însă structura celulară a tuberculilor Mp și proporția celulelor se deosebește întrucîtva de tabloul obișnuit al tuberculozei. În literatură găsim destul de des date referitoare la problema patogeniei Mp. Szabó și Cziffer amintesc că din ganglionii limfatici ai unui copil au putut izola Mp, care s-a dovedit patogen și în inocularea la animale. Dintre autorii străini Lester amintește 130 cazuri în care bacili saprofiți au figurat ca agenți patogeni.

Am încercat să examinăm cum se comportă din punct de vedere al imunității animalele inoculate cu Mp activat de Tween 40 și infectate ulterior cu tulpina Ratti. În experiența noastră am constatat că Mp activat cu Tween 40 nu este capabil să influențeze progredierea tuberculozei veritabile.

#### A VI-a serie de experiențe.

În această serie de experiențe am căutat să aflăm ce fel de procese se produc la animalele inoculate în mod repetat cu o suspensie de Mp + Tween 40. Am inoculat s. c. cu această suspensie în total 5 animale. Durata medie de supraviețuire a animalelor a fost de 45 zile. Examenul histo-patologic (cu excepția unui singur caz) au arătat la toate animalele tuberculoza productivă a splinei și a ficatului.

#### A VII-a serie de experiențe.

Inocularea Nr. I: Mt Ratti + Tween 40 i. d. în jurul nodulilor limfatici 0,2 cc.

Inocularea Nr. II: aceeași.

Infectarea: Mt. Ratti 0,2 cc.

Timpul dintre inoculări	Numărul animalelor				
	1	2	3	4	5
De la I. inoculare pînă la a II.	16	16	16	16	16
De la a II. inoc. pînă la infect.	14	14	14	14	14
De la infect. p. la moartea anim.	9	11	35	38	62

Durata vieții animalelor inoculate cu tulpina Ratti - Tween 40. este în medie de 30 zile, socotite de la inocularea, pe cind durata vieții animalelor inoculate numai cu tulpina Ratti este de 34 zile. Deci Tween 40 accentuează intrucitva virulența tulpinii Ratti. Animalul nr. 1 a pierit la 9 zile după infectare și în organele lui am găsit leziuni specifice. Progredierea atît de rapidă a tuberculozei nu am putut-o constata în nici unul din celelalte cazuri ale noastre.

În concluzie, în cursul experiențelor noastre am constatat următoarele:

1. Bacilii acidorezistenți, astfel și *Mycobacterium phlei*, provoacă alergizarea organismului. Deoarece în experiențele noastre am putut provoca cu ajutorul tulpinei de tip uman Ratti reacție alergică în animalele inoculate cu Mp, părerea noastră este că alergia față de tuberculină nu înseamnă numai decît că în organism s-a petrecut sau se petrece o infecție tuberculoasă. În organismul alergizat cu tulpina saprofită Mp, cu ocazia infecției i. d. și s. c. am constatat fenomenul anafilaxiei locale active, adică fenomenul alergiei: edem, hemoragii și necroză la locul infecției. Reacția necrogenă a organismului sensibilizat o interpretăm ca o imuno-reacție.

2. După părerea lui *Ado* și *Putnoky* între alergii și imunitate există numai deosebiri cantitative. Dacă la reinfecție se introduce în organismul sensibilizat o cantitate mare de agenți patogeni virulenți, apar simptomele acute ale alergiei: spasm, tulburări de tonus, dilatație, creșterea permeabilității, activarea elementelor țesutului conjunctiv și a elementelor SRE, descvamarea celulară, nemosideroză. Dacă numărul agenților patogeni pătrunși în organism este mic și virulența lor e scăzută, tabloul alergiei nu este atît de grav ca în primul caz, apar simptomele inflamației cronice și imunitatea durează mai mult. În forma acută a alergiei leziunile suferite de organism în cursul apărării sale proprii sînt mai grave decît în formele cronice. Examenale histo-patologice dovedesc afirmațiile noastre. *K. J. Jensen* a făcut constatări asemănătoare. În schimb *A. Wallgreen* e de părere, că alergii face ca organismul să fie mai vulnerabil. *Hajnal* a constatat că în anafilaxie se ridică titrul anticorpilor specifici din cauza creșterii tonusului parasimpatic, în schimb histamina și acetilcolina eliberate la sfîrșitul reacției, ca activanți SRE, provoacă de asemenea creșterea titrului anticorpilor. Într-o altă serie de experiențe, care nu figurează în lucrarea de față, am obținut reacții anafilactice tipice cu diferite fracții ale bacililor tuberculoși. Deci bacilul tuberculos are și proprietăți anafilactogene.

3. Pare reală presupunerea noastră, că în cazul reinfecției se eliberează prin tuberculoliză o cantitate mare de tuberculoproteine, care nu produc numai reacția alergică, ci paralizază în mod direct funcțiunea deintoxicantă a ficatului. Presupunerea noastră se bazează pe constatarea, că în toate cazurile, dintre organele examinate, leziunile cele mai grave le-am găsit în ficat.

4. Atribuim un rol important acțiunii unor estere asupra bacililor acidorezistenți saprofiți, întrucît s-ar putea presupune că în condiții patologice activarea saprofiților acidorezistenți se poate produce și în organism. Examinarea acestei probleme merită o atenție deosebită.

5. În sfîrșit sintetizăm constatările noastre referitoare la identitatea alergiei și a anafilaxiei pe baza examenelor noastre histo-patologice. O parte dintre animale au pierit scurt timp după reinjectarea antigenului. În organele acestor animale n-am găsit inflamație specifică, cu atît mai pronunțate erau însă acele leziuni ale țesuturilor, care dovedesc o stare alergică-anafilactică. Faptul că în organele animalelor pierdute de timpuriu din cauza anafilaxiei, nu am găsit leziuni specifice exudative, arată că moartea animalelor n-a fost cauzată de progredierea procesului tuberculos, ci de starea anafilactică-alergică produsă de infecție, stare care a asigurat animalelor totodată o oarecare imunitate față de bacilul tuberculos. Pe baza experiențelor noastre am ajuns la concluzia, că alergii nu acopera în mod absolut noțiunea de imunitate față de tuberculoză. Alergia, ca un factor important al imunității, explică acele modificări funcțional-umorale, care se petrec sub reglarea sistemului nervos în organismul sensibilizat, la pătrunderea agentului patogen.