

Contribució a l'estudi de l'immunitat dita opsònica

Aquest treball es la continuació d'una serie d'experiencies que en Sayé y jo vàrem emprendre sobre l'índex opsònich, durant part del any 1909 y la quasi totalitat del 1910 (1). En aquella data, el mètode de Wright va lograr una extensió considerable y nosaltres, vivament interessats per tots els problemes de l'immunitat, determinàrem contribuir a l'estudi d'una qüestió, que com la de les opsonines, era a l'ordre del día.

Un cop acabada la tasca, que'ns havíem imposat, referent a l'investigació de l'índex opsònich y de les seves aplicacions clíniques en malalts tifòidichs y especialment en tuberculosos, jo vaig sentir la necessitat de continuar l'estudi de l'immunitat opsònica fins els més petits detalls. Mes, pera realisar aquestes investigacions, la tècnica de Wright ens ofereix, apart de les dificultats de caràcter purament manual, que son inevitables, alguns inconvenients inherents al mateix mètode, que poden esser causa d'erro en els resultats.

Per aquest motiu, en les meves investigacions, en lloch de la tècnica de Wright, he adoptat el mètode de Löwenstein, que's funda en l'estudi de la fagocitosis dels esputs dels tuberculosos pulmonars. Més endavant, veurem, més detalladament, perquè aquest ha sigut el procediment escullit.

Ara m'ocuparé, concisament, dels citats inconvenients del mètode de Wright.

Pera la determinació d'un índex opsònich se necessita, com es sabut, el contacte in vitro dels leucocits ab el serum y ab la emulsió bacteriana corresponents. D'aquests tres elements, tinch de parlar del primer, o sigui dels leucocits y de la emulsió bacteriana. Del serum no dech ocuparmen.

¿El leucocit es un *factor indiferent* en l'opsonisació, es dir, un element fixe y

(1) Las opsoninas en la tuberculosis. Su aplicación al tratamiento específico de la tuberculosis pulmonar. (Treball del Laboratori de Patología general de la Facultat de Medicina de Barcelona, a càrreg del Prof. Dr. Eusebi Oliver Aznar.) Ponencia presentada al 1.er Congreso español internacional de la Tuberculosis (Barcelona, octubre 1910). *Therapia*, 15 janer 1911. P. 7.

constant que té d'obeir cegament a les incitacions humorals, com sostenien Dean y altres autors (Wright y Douglas; Bulloch y Atkin) (1)? De les experiencies y observacions modernes se'n desprèn, que aquesta noció de l'indiferentisme leucocitari, que ha conduit a l'ús d'elements fagocitaris de les més diferents procedencies, en les determinacions del índex opsonich, no està gens ben fundada.

Wolff-Eisner y Wolfsohn (2) han demostrat, que'ls polinucliaris d'una leucemia linfàtica, posats en contacte ab serum normal, fagociten molt menys que'ls leucocits normals ab relació al mateix serum; y que, contrariament, el serum de la leucemia, ab leucocits normals demostra un poder opsonich més gran que'l serum normal.

Així mateix, Parvu (3) ha vist que'l 50 % dels leucocits d'una leucemia mielogena, son inútils pera fagocitar.

Això per lo que's refereix als fagocits humans.

Per altra banda, es conegut el fet, del petit poder fagocitari que tenen els leucocits del conillet d'Indies ($\frac{1}{5}$ y fins $\frac{1}{6}$ dels humans) y potser així s'expliqui, que aquests animalets ofereixin tan poca resistència a l'infecció tuberculosa (4).

Els autors que han empleat aquests leucocits o be'ls del conill, pera l'estudi de les opsonines humanes, han trobat els resultats, quantitativament, molt inferiors als obtinguts ab leucocits humans (5). Lo mateix passa, si s'empleen aquests leucocits humans, pera l'investigació dels serums d'animals, encara que llavors l'erro es més petit.

Per lo tant, no's pot creure en aquell paper d'absoluta pasivitat, que Dean y altres atribuiren a la cèlula fagocitaria, encara que'l medi que la rodeja la estimuli a cumplir la seva funció: se veu que en el compliment d'aquesta, hi intervenen altres influencies, propries de l'element celular, independenment de les humorals.

Un altre argument poderós, en contra de l'idea de l'indiferencia dels leucocits, es la discussió que hi va haver quan la divulgació del mètode de Wright, referent al fenomen de la *fagocitosis espontània*, es dir, de la fagocitosis sobrevinguda en un medi inert, desprovist de tot principi incitant.

De la immensa literatura que s'ha ocupat d'aquesta qüestió, solsament reculliré, aquí, les conclusions de Löhlein, de Levaditi y de Inmann, donat l'interès especial que tenen pera l'estudi que'ns ocupa.

(1) *Proceedings of the Royal Society*, vol. 74, 1904. Traducció alemana: *Versuche über die Art und Weise der opsonischen Wirkung des Blutserums*. Pàg. 69 de l'obra d'En A. E. Wright: *Studien über Immunisierung*, 1909. Fischer. Jena.

(2) A. Wolff-Eisner. *Frühdiagnose und Tuberkulose-Immunität*. 1909, 2.^a edició, p. 76.

(3) Pouvoir phagocytaire des globules blancs et indice opsonique dans la leucémie myélogène. (*C. R. Soc. Biol.* t. LXV, 21 novbre. 1908, p. 480.)

(4) Wolff-Eisner. *Loc. cit.* p. 77.

(5) Petit y Breton (En la febre tifoidea, ab leucocits de conill porquí). Cit. per En Milhit: *Les opsonines. Étude physico-chimique et biologique*, 1909. París. Jules Rousset. Pàg. 28.

Löhlein ha cridat l'atenció sobre la *duració* del contacte dels leucocits ab les bacteries, com a causa de fagocitosis espontània, lo que al mateix temps ha sigut comprovat per Levaditi y Inmann. Ademés, aquests dos últims autors estudiaren la influencia de l'edat y de la virulencia del cultiu y demostraren que la primera, está en rahó directa y la segona en rahó inversa de l'intensitat de la fagocitosis espontània.

Ab el procediment de Löwenstein, el contacte dels leucocits y les bacteries té lloch en el propi locus morbi, en l'arbre alveolo-bronquial del malalt y no in vitro com en les investigacions opsòniques de Wright. En aquest últim cas la duració del temps de contacte pot medirse matemàticament (1), lo que es absolutament impossible, com se comprèn, ab el mètode de Löwenstein. No obstant, es d'una evidència absoluta, que les condicions del contacte in vitro, entre'ls leucocits y les bacteries, son molt diferents de les del contacte in vivo de dits elements, banyats constantment, ja en la circulació general, ja en lo mes íntim dels teixits, pels humors opsònichs. Un leucocit, diu Levaditi, posat en relació ab una especie microbiana, exerceix la seva funció fagocitaria ab lentitut y dificultosament, mentres que dita funció adquireix proporcions inusitades, ab la presencia d'una petitíssima quantitat de serum.

Löwenstein (2) en un cas de tuberculosi de la bufeta urinaria, va observar que'ls baccils no estaven fagocitats, trobantlos únicament situats per entremitg de les cèlules purulentes. Llavors, va posar en contacte'ls leucocits de l'orina centrifugada, ab el serum del mateix malalt y ab baccils tuberculosos y després d'una curta estada de la barreja a 37° C, va veure com molts dels leucocits havien fagocitat d'una manera extraordinaria. Com que en aquesta observació se va lograr la fagocitosis in vitro, ab els mateixos elements que in vivo eren inútils pera produirla, Löwenstein ne dedueix la gran variabilitat del fenòmen, segons les condicions de l'experiencia.

Wolff-Eisner (3), comentant aquesta curiosa observació de Löwenstein, s'inclina a creure que en aquest cas especial, el serum opsònich del malalt no exercia la seva acció sobre'l procés baccilar de la bufeta. Si aquesta opinió es certa, demostra senzillament que la conclusió de Löhlein, de Levaditi y de Inmann, relativa al temps de contacte, treta d'experiencies in vitro, no té tampoch una aplicació justa als fets tal com se verifiquen en l'organisme.

Respecte a les altres dues condicions (Levaditi e Inmann), que regeixen el fenòmen de la fagocitosis espontània, l'edat de la bacteria y la seva virulencia, crech que la primera es d'impossible valoració en aquestes investigacions sobre la mateixa lesió y

(1) Els autors anglesos recomanen 15' a 37° C. Si s'allarga aquest temps a 30', 60' o 90' la fagocitosis espontània ja's presenta. (Löhlein.)

(2) *Deutsch. med. Woch.* N.º 43, 1907, p. 1778.

(3) *Frühdiagnose u. Tuberk.—Imm.*, p. 79.

que la virulencia, factor positiu encara que variable, afavoreix l'intervenció de les opsonines, car Levaditi mateix, sosté la original convicció, que precisament aquestes substancies actúen, quan el leucocit no pot, per si sol, fagocitar la bacteria virulenta.

Per lo tant y en resúm, sense negar en absolut la presencia de la fagocitosis espontània en el mètode de Löwenstein, crech que la seva actuació deu tenir ben poca importancia. Per altra banda, en el curs de les meves investigacions, m'he pogut convèncer de la clara repercusió de fenòmens de caràcter general, sobre la fagocitosis dels esputs.

En el fons, donchs, el procediment de Löwenstein té una ben fundada superioritat d'orientació, al recomanar, pera la determinació del poder fagocitari, la utilització dels elements que'l propi organisme suministra. Els leucocits son, decididament, massa sensibles a les condicions exteriors, pera sotmetrels a les experiencies in vitro, sense perjudicarlos el seu delicat funcionalisme.

En el mètode de Wright, se recomana l'us d'un cultiu o bé de baccils morts, pera la preparació de la emulsió. Igualment que pera'l leucocit, Löwenstein tampoch està d'acord ab aquesta manera de procedir, opinant que la bacteria no es *indiferent*, com molt sovint s'ha dit.

En efecte, no s'observa ab tots els baccils tuberculosos la mateixa intensitat de la fagocitosis, ja que hi ha baccils que son fagocitats molt fàcilment pels leucocits y altres que ho son dificultosament.

Això no solament ho ha comprovat Löwenstein (1), sino que Behring (2), pel seu compte, ha demostrat que, in vitro, la conducta dels fagocits es variable, en contacte ab diferents mostres de baccils virulents. També Bächer (3), baix la direcció de Metchnikoff, s'ha adherit a n'aquesta opinió.

Per lo tant, el mètode de Wright, además dels errors propis de tota tècnica dificultosa, presenta la desventatja de l'us de leucocits y de bacteries de procedencia extranya, circumstancia que, com queda demostrat, pot conduir a l'obtenció de resultats bastant allunyats de la realitat. Així, pera portar a cap les meves investigacions sobre l'immunitat opsònica y tenint en compte les idees de Löwenstein, relatives a la utilització dels elements del propi malalt, ¿quina malaltia podia escullir millor que la tuberculosi pulmonar, desgraciadament tan abundant, en la que existeix la possibilitat d'examinar en la mateixa lesió el curs y contingencies del procés fagocitari sense necessitat de recórrer a leucocits y a baccils forasters? D'aquesta manera, de l'observació de

(1) *Deutsch. med. Woch.* 1907. N.º 43.

(2) Cit. per En Bartel u. Neumann. *Leucocyt und Tuberkelbacillus.* (*Zentralblatt für Bakteriologie*, 1906, t. XL, N.º 5.)

(3) *Zeitschr. f. Hygiene.* 1907, t. LVI,

la fagocitosis en els esputs, poden deduirse les mateixes conclusions que de la determinació de l'índex opsònic, lo que a una exactitut més gran, uneix la ventatja d'una tècnica més senzilla, segons Wolff-Eisner (1).

No obstant, aquesta senzillesa de la tècnica no es més que aparent, ja que si be ab el mètode de Löwenstein s'estalvien els primers temps de la tècnica de Wright (obtenció dels serums y dels leucocits, preparació de la emulsió bacilar y de la mescla d'aquests elements, estada a l'estufa y extensió), el contactge ab dit mètode presenta dificultats enormes, no gens comparables a les que'ns ofereix el mateix temps, en la determinació ordinària de l'índex opsònic.

Pera verificar les investigacions contingudes en aquest treball, m'hi valgut d'una tècnica lògica y senzillament fundada, imaginada per mi y que meresqué l'aprobació de Löwenstein al sotmètrela al seu judici.

Aquesta tècnica, exposada ab algun detall, es la següent:

Pera l'apreciació dels fenòmens de la fagocitosis d'un esput es precís y indispensable que aquest sigui fresch, a l'objecte d'evitar senyals de descomposició en els elements celulars. Per això els esputs que sempre he escullit pera aquest estudi, son els de les primeres hores del matí. Aquests esputs se recullen en una càpsula de Petri colocada sobre un fons negre, a fi de que les partícules purulentes se distingeixin be de les mucoses; llavors per medi d'unes pinces de Kocher y d'unes estisorettes curves, se separen de les diferents porcions del esput, 8 o 10 partícules purulentes, tan petites com sigui possible, colcantles sobre dos porta-objectes, 4 o 5 en cada un d'ells. Després, per medi d'una vareta molt fina de vidre, se practica l'extensió, procurant que la làmina obtinguda sigui fina y homogènia a la vegada, lo que's consegueix ab relativa facilitat, per el petit tamany de les partícules separades y pel moviment suau y repetit de la vareta. Si aquest fos molt compressiu y barroer, indefectiblement perjudicaria la forma y fins l'integritat dels leucocits.

Un cop feta l'extensió, vé la fixació per medi de l'acció del calor (làmpara d'alcohol o Bunsen) a distancia — al objecte de que no sigui excessivament intensa — y per intermitències, fins a conseguir l'efecte desitjat.

Dech advertir que aquests temps de l'extensió y de la fixació tenen moltíssima importancia, si's volen obtenir bones preparacions.

La coloració d'aquestes es la següent:

Fuxina fenicada (5 minuts), lleugerament escalfada; rentat ab aygua abundant y decoloració pel àcid nítrich al ters. Ab aquest decolorant no s'obtenen pitjors prepara-

(1) *Frühdiagnose, etc.*, p. 79.

cions que ab l'àcid sulfúrich al 2 0/0; es més, devegades m'ha semblat que ab aquest darrer, les preparacions no sols no ofereixen les ventatjes que s'esperaven, sino que encara presenten més inconvenients.

La coloració dels nuclis dels leucocits se fa per medi del blau de Löffler, no diluit, durant uns segons.

El temps de la tècnica més delicat y més difícil es el contatge. Per això, se conten 100 baccils y'l nombre que dels mateixos són fagocitats. A l'objecte d'obtenir un valor tan aproximat a la veritat com sigui possible, se repeteix aquest contatge tres vegades més, en camps diferents de les preparacions y després se calcula la relació percentual mitja. De manera que procedint així, en total se conten 400 baccils: 200 en cada una de les 2 preparacions y en 4 camps diferents o sigui 50 baccils en cada un d'aquests camps. Devegades m'he vist obligat, per deficiencia de les preparacions, a contentarme a xifres de baccils inferiors a 400. Altres vegades si la diferencia entre les xifres de baccils fagocitats excedeix de 20, lo que no es freqüent, n'he contat un altra centenar, es dir 500 en conjunt. Aquesta conducta s'inspira en una precaució extremada, com se dedueix de les experiencies següents.

A l'objecte de convèncem fins a quin punt aquesta manera de valorar el poder fagocitari pot donar constancia en els resultats, per lo que's refereix a l'observació de camps diferents de la preparació, he practicat les següents experiencies comprobatories.

Per això, he utilisat les preparacions d'un dels malalts més insistentment observats, corresponents al día 4 de septembre de 1911.

El primer contatge va donarme'l següent resultat:

Centenar	1.er	2.on	3.er	4.rt	Promedi
	39 0/0	39 0/0	52 0/0	47 0/0	44,25 0/0

Rento després les dues preparacions ab xilol, a l'objecte de netejarles de l'oli de cedre.

Segón contatge, fet en camps diferents:

Centenar	1.er	2.on	3.er	4.rt	Promedi
	52 0/0	39 0/0	37 0/0	48 0/0	44 0/0.

Dubtant que la coincidencia pogués esser deguda a haver observat involuntariament els mateixos camps en els dos contatges — lo que no obstant es inverossímil — ab el propòsit de procedir rectament, vaig repetir l'experiencia ab les preparacions del día següent (5 septembre) del mateix malalt, no rentantles aquest cop ab xilol, a fi de

que les mateixes taques de l'oli de cedre m'indiquessin, ab certesa, els camps vistos en el primer contatge.

Els resultats foren els següents:

Primer contatge:

Centenar	1. ^{er}	2. ^{on}	3. ^{er}	4. ^{rt}	Promedi
	43 0/0	46 0/0	48 0/0	68 0/0	51,25 0/0

Segón contatge, en camps diferents:

Centenar	1. ^{er}	2. ^{on}	3. ^{er}	4. ^{rt}	Promedi
	59 0/0	49 0/0	54 0/0	44 0/0	51,5 0/0.

Per lo tant, el valor fagocitari promedi, varia d'una manera insignificant, ab el cambi dels camps d'observació.

L'elecció d'aquests camps deu esser molt cuidadosa. En les meves observacions he tingut sempre la precaució d'escullir els que presenten un número discret de leucocits, ja que si aquests fossin tan abundants, que contactessin mutuament, seria impossible, en moltíssims casos, distingir si'ls baccils són fagocitats o solament se troben situats per entre'ls fagocits. En cambi, no es necessari indicar les conseqüències de l'extrem oposat, del seu número excessivament petit.

Per tot això, el camp escullit es purament individual y per la costum se decideix, a primera vista, si es o no convenient, sense necessitat de contar els leucocits que en ell hi ha, lo que seria una complicació més de la tècnica, que's pot evitar perfectament. D'aquesta manera, en aquestes observacions comparatives, sempre m'he trobat en condicions molt anàlogues, que es a lo que es deu aspirar, ja que la seva identitat es impossible conseguirla.

D'aquesta curta exposició, ja se'n desprèn que'l mètode ofereix bastantes dificultats.

En primer lloch, no sempre les preparacions resulten lo degudament exteses, fixades y tenyides, per cuidadosa que hagi sigut l'execució d'aquestes operacions. Lo mateix passa ab la determinació de l'índex opsònic, com he pogut comprobar durant l'estudi que ab en Sayé, he fet sobre aquesta qüestió (1), estudi a que tinch ocasió d'aludir en aquest treball algunes vegades.

(1) Loc. cit.

Un altra dificultat es precisament l'elecció del camp de que he parlat. Devegades les seves condicions són immillorables, per lo que's refereix a la distribució, integritat y coloració dels leucocits, mes en cambi no hi han baccils o be són escassíssims, altres vegades aquests són abundants, mes els elements celulars no ofereixen les degudes qualitats.

He trobat una mena d'esput que presenta una dificultat extraordinaria pera l'estudi de la fagocitosis. Es un esput expulsat en petita quantitat y en apariencia poch mucós.

Coneixent la seva particularitat, sempre he separat del mateix les partícules d'aspecte més marcadament purulent, pera fer les preparacions. Ab totes les precaucions, se pot lograr l'atenuació dels caràcters defectuosos, mes may la seva complerta desaparició. L'aspecte d'aquestes preparacions es típic.

Compenetrantse íntimament el moch ab el pus, els camps de la preparació se presenten creuats per faixes y filaments mucosos, que deformen els leucocits y'n tapen per complert el contorn protoplasmàtic. Els nuclis també'n resulten alterats, ja que la seva coloració es confosa y lo mateix passa ab els baccils. Examinant els diferents camps de la preparació, s'observen apilotaments de leucocits, que, en la seva part més densa y central, encara retenen la fuxina y en la periferie, irregularment tenyida de blau, se presenten els elements celulars molt mal distribuïts y deformats. Per entre aquestes acumulacions de leucocits, acostumen a presentarse les faixes mucoses y'ls fagocits ab els caràcters exposats. Aquestes preparacions anómales poden atribuirse, a primera vista, a un defecte de l'extensió; encara que aquesta, en realitat, ha de esser impotent pera vencer aquesta especie d'aglutinació dels leucocits, sense perjudici de la seva integritat.

En cambi, existeixen preparacions en que es perfecta la distribució, com la integritat y la coloració dels leucocits y per lo tant el contatge es fàcil.

Entre aquests dos tipus oposats, se troben, com es natural, totes les formes intermitges imaginables.

De lo exposat se'n dedueix, que'l temps de la tècnica més difícil, es el del contatge, que, per altra banda, per l'atenció concentrada que requereix, ocasiona en el moment de practicarlo, una fatiga mental y visual pronunciades, que impossibiliten l'observació seguida de més de 4 preparacions o sigui el contatge de més de 800 baccils.

Ja que com objecte del meu estudi, per les rahons exposades, he tingut que recórrer a la tuberculosi del pulmó, es necessari pera l'exposició que ara'm correspòn fer de les meves investigacions—després d'aquests preliminars indispensables y de la descripció de la tècnica que he empleat—entrar en l'estudi, per una banda, de les relacions

entre la bacteria y'ls elements celulars del tubèrcul y per l'altra, de les relacions entre aquest tubèrcul y l'organisme infectat. Per aquest motiu, es precís que en primer lloch, m'ocupi de la concepció, avuy día més adoptada, referent al procés evolutiu de la lesió específica.

La opinió que en l'actualitat té més partidaris, referent a l'histogènesis del tubèrcul es la de Baumgarten (V. I. Straus. *La Tuberculose et son bacille*. París, 1895, cap. IX, p. 253).

Donada l'immovilitat del baccil tuberculós, la seva presencia a l'interior de les cèlules epitelioides, Koch solament podia explicàrsela, per la conducció de la bacteria per medi dels leucocits, fins un punt determinat de l'organisme, ahont aquests elements mòvils se fixen y transformen en cèlules epitelioides, metamorfosis que al mateix temps també té lloch en les cèlules vehines, baix l'estímul de la bacteria. Per lo que's refereix a l'habitada pel baccil, el nucli's multiplica considerablement. Per lo tant, pera Koch en l'histogènesis del tubèrcul, el paper principal el juguen els leucocits, tenint els elements fixos del teixit una importancia solament secundaria.

Arnold (1) demostrà la existencia de figures carioquinètiques, en els elements epiteliais dels teixits tuberculosos (ronyó, pulmó), atribuint, per aquest important fet, participació de dits elements en la formació de les cèlules epitelioides y gegants.

Mes, a qui verament se deù l'haber demostrat el paper fonamental de les cèlules fixes dels teixits en la gènesis del tubèrcul, es a Baumgarten (2).

Pera aquest investigador, el tubèrcul procedeix de les cèlules epiteliais y connectives del teixit invadit. Baix l'estímul del baccil, aquests elements proliferen y's transformen en cèlules epitelioides y gegants. En el pulmó, per exemple, la lesió comença, per regla general, en l'alveol, originantse ab la divisió carioquinètica de les cèlules epiteliais alveolars y del endoteli dels capilars. Les cèlules gegants no's formen per la confluencia de les epitelioides, sino que's formen per la proliferació nucliar d'una sola d'aquestes cèlules, proliferació que no va acompanyada de segmentació protoplasmàtica.

Aquestes idees de Baumgarten han sigut estudiades y ampliades per Kostenitch y Wolkow a l'Institut Pasteur y al laboratori de Straus. Aquests autors, varen investigar l'efecte de l'inoculació de baccils humans en la còrnea, en la cambra anterior del ull y ademés en el parènquima renal. Pera comparar, varen injectar partícules inertes (dilució estèril de tinta xina) a altres animals, pera l'estudi dels efectes específichs del baccil de Koch.

(1) Beiträge zur Anatomie des miliaren Tuberkels (*Virchow's Archiv*, B. 82, 83; 87, 88).

(2) Experimentelle und pathol-anat. Untersuchungen über Tuberculose (*Zeitschr. f. Klinische Medicin*, 1885. B. 9, pp. 93, 245 y B. 10, p. 24). — (*Lehrbuch der pathol. Mykologie*, 1890, B. 2, pp. 555-600.)

ARXIVS DE L'INSTITVT DE CIENCIES

Aquestes experiencies donaren els següents importants resultats, que exposaré concisament:

Bacil tuberculós
Poch després de l'inoculació

Exudat sero-fibrinós

Tinta xina
Poch després de l'injecció

Lo mateix, però ab menys intensitat. Per lo tant, aquest fenòmen no pot atribuirse a l'acció específica del bacil.

Tres hores després, aproximadament

Invasió de leucocits polinucliar (fase de leucocitosis polinucliar primaria de K. y W.) Sense fagocitosis. Destrucció d'aquests leucocits.

La mateixa leucocitosis, però menys pronunciada y de menys duració. El bacil tuberculós, per consegüent, ofereix més poder atractiu.

Al comensar la degeneració dels leucocits

Reacció dels elements fixos del teixit. Figures carioquinètiques. Cèlules epitelioides que fagociten.

El mateix fenòmen, però ab poca intensitat.

Al 6^e o 9^e dia

Fase de leucocitosis mononucliar, que persisteix durant tot el curs ulterior del tubèrcol.

Igual fenòmen, si bé més intens, que condueix a la formació de teixit fibrós de cicatrissació.

Fase de degeneració

Necrosis y regressió caseosa y leucocitosis polinucliar secundaria.

El tubèrcul, en els primers estadis del seu desenrotllo, impressiona ben poch als processus defensius específichs.

Com hem vist, per les experiencies de Kostenitch y de Wolkow, el bacil tuberculós implantat en un teixit, se condueix en els primers períodes del desenrotllo de la lesió, com un còs inert, provocant en els teixits les mateixes reaccions, si be ab diferencies de caràcter quantitatiu. En la fase de leucocitosis polinucliar primaria de dits autors, malgrat la invasió de leucocits no's veuen fenòmens de fagocitosis. En cambi, aquests tenen lloch y ordinariament ab intensitat, en les cèlules epitelioides que's presenten al degenerar els polinucliar que han invadit el camp de la lesió. No crech inverossímil, que aquest fenòmen sigui degut a la mateixa destrucció dels leucocits, posantse així en llibertat les substancies que poden estimular el procés fagocitari, que probablement contenen aquests elements celulars.

A la fase de degeneració, el tubèrcul presenta la regressió caseosa característica, mentres que l'alteració provocada en els teixits pel còs inert, acaba en teixit fibrós cicatricial.

Durant aquesta fase de degeneració, les relacions de la lesió ab l'organisme poden ferse molt íntimes y's pot verificar l'absorció de productes del teixit necrosat, així com la del mateix bacil, sense que això impliqui el desenrotllo d'una infecció general, ni localisada en altres òrgans. L'antigen ingressat en plena circulació y en contacte immediat ab l'energía individual del malalt, excita el mecanisme defensiu y la posterior formació d'anticossos. Per això els fagocits que integren la fase de leucocitosis polinuclear secundària, ordinàriament se troben en condicions d'atacar y d'apoderarse del bacils tuberculosos, lo que no es posible en la fase primària, per no haver adquirit encara el tubèrcul el grau evolutiu necessari.

La falta de la fagocitosis en'els esputs, que molt sovint se presenta, Löwenstein (1) vol explicar-la en el sentit de que en aquests casos, el bacil no obra, per si sol, com un estímul quimiotàctich, sino que aquest estímul, surt del mateix teixit necrosat y per lo tant el procés defensiu no's dirigeix directament contra la bacteria: l'organisme utilisa l'aparell fagocitari d'una manera més extensa, més pràctica, perque l'utilisa pera la limitació, reblaniment y eliminació de tot el teixit necrosat.

Una altra explicació possible, es que en aquests casos, no han tingut lloch els citats fenòmens d'absorció de substancies de la lesió, del propi bacil y d'immunisació successiva, es dir, no hi ha hagut les denominades autoinoculacions y per lo tant també falta la resposta del organisme a les mateixes, ab formació de substancies defensives: d'aquestes, les bacteriolisines y opsonines (2) se reflexen clarament en el fenòmen de la fagocitosis dels esputs.

(1) Ein Beitrag zur Histologie des tuberkulösen Auswurfes (*Zeitschr. für Tuberkulose*, 1906, B. 10. H. 1. p. 49). — Über das Verhalten der Eiterzellen gegenüber den Tuberkelbazillen. (*Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankh.* 1906, 440).

(2) La qüestió de la estructura de l'opsonina. a l'objecte d'establir les seves relacions ab els demés anticossos, ha sigut tan discutida, que alguns autors com Strübell (1*), han arribat a l'afirmació de que estem absolutament desorientats, sobre la mateixa. Donada l'importancia del problema, ens ocuparem de l'opinió que sembla més ajustada y dels principals arguments en que's basa.

Bulloch y Atkin (2*) sostenen que l'opsonina es termolabil, que no es idèntica a cap dels altres anticossos del serum y que la seva estructura es relativament senzilla.

Wright y Reid (3*), demostren la termo y l'heliolabilitat de les opsonines específiques, diluint el serum, especialment abans de sotmètre'l a l'acció del calor.

Pera altres autors, la qüestió no es tan senzilla y hi ha que establir, primerament, una distinció entre la opsonina normal y la específica.

(1*) Citat per Milhit: *Les opsonines. Étude physico-chimique et biologique*. París, 1909, p. 83.

(2*) *Proceedings of the Roy. Soc.* Vol. 74, 1904. Versuche über die Art und Weise der opsonischen Wirkung des Blutserums (Wright, l. c., p. 69).

(3*) *Proceedings of the Roy. Soc.* B, vol. 77, 1906. Über spontane Phagozytose und die mit erhitztem Serum von Patienten erhaltene Phagozytose die auf eine Tuberkelinfektion resp. auf die Inokulation eines Tuberkelvakzins reagiert haben (Wright, l. c., p. 109).

En l'existència y efecte d'aquestes autoinoculacions, se funda la classificació dels tuberculosos de Wright y de Reid, en: a) malalts d'infecció estrictament localisada, ab falta de fenòmens d'ordre general, y b) malalts de procés progressiu y ab trastorns generals.

Dits autors, han estudiat aquests malalts baix el punt de vista opsònic y han vist que'ls de la primera classe ofereixen la particularitat de presentar sempre l'índex

Respecte de la primera, hi ha absoluta conformitat, en primer lloch, en que's destrueix totalment a 58° y en segon lloch, en identificarla ab el complement. Les probes son nombroses y convincents (1*).

Respecte de l'especifica, la discussió ha sigut molt empenyada.

Queda dit que Wright y Reid, fundantse en la termo y l'heliolabilitat, la consideren com un cos especial. Aquests autors demostren aquestes propietats, diluint el serum.

Pera Henri l'escalfament es causa de modificacions físiques y químiques, que no deixen de repercutir, intensament, sobre les propietats dels coloides del serum. Quan aquest es sotmès a l'acció del calor, els coloides adquireixen un estat d'estabilitat inferior al del serum normal.

Per la seva part, Hans Sachs insisteix en les modificacions produïdes per l'escalfament, quan se tracta de dilucions (2*).

Per això, Hannema (3*) ha pogut demostrar que un serum provehit de fixadors, que sigui primerament diluit y després escalfat, pert aquests fixadors y les bacteriotropines de Neufeld.

La termoestabilitat, sembla que depèn de les diferents concentracions, en que les opsonines y bacteriolisines se troben en els serums normals y específichs.

Per altra banda, Dean (4*) treballant ab quantitats grosses de serum, no ha pogut comprobar la termolabilitat afirmada per En Wright.

Per aquestes circumstancies, de caràcter físich-químich, que pertorben el resultat de les experiències, se comprèn la diversitat de parers sobre la naturalesa de l'opsonina específica.

Neufeld y Hühne diuen bacteriotropines a les opsonines específiques, ja que pera ells, no ofereixen cap analogia ab els amboceptors. Sostenen la seva opinió, en la falta de paralelisme existent, entre'l poder bacteriolítich y l'opsònic de determinats serums, existintne de molt opsònichs y complertament desprovistos d'amboceptors (bacteriolisis in vitro).

Levaditi s'oposa a n'aquesta opinió, sostenint, que la reacció de la desviació del complement, permet demostrar a la sensibilitriu, en serums específichs, que no presenten propietats bactericides. La falta d'aquell paralelisme, pot explicarse pel fet de que aquestes dues propietats, s'aprecien per medi de reactius diferents.

Hannema sosté que les bacteriotropines son opsonines refractaries a l'escalfament, a causa de la seva concentració.

Donada la seva resistència al calor, qualsevolga que sigui'l grau de la mateixa y la possibilitat de reactivar un serum específich abans calentat, afegintli una petitíssima quantitat de serum diluit, l'opinió que avuy tendeix a dominar, es la de considerar l'opsonina específica com idèntica al amboceptor.

Per altra banda, s'ha demostrat que la fagocitosis es més intensa, quan les bacteries han sigut sensibilisades pel fixador y per lo tant una fagocitosis intensa, es l'indicador d'abundancia d'amboceptors (bacteriolisinas).

Per consegüent, s'identifica avuy dia la forma bacteriolítica de l'immunitat ab l'opsònica. Quan la bacteria sensibilisada's posa en contacte ab el complement extracelular, té lloch la bacteriolisis y si's posa en contacte ab el leucocit, la fagocitosis.

D'aquí que en el concepte modern, les bacteriolisines son unes substancies que's formen en el organisme per la injecció de bacteries o dels seus derivats y que tenen per objecte la disolució de les bacteries (baix l'acció del complement extracelular) o la seva preparació pera ser agafades y digerides pels leucocits (ab l'ajuda, verossimilment, del complement endocelular) (5*).

D'aquesta manera, segons sembla, s'verifiquen els fenòmens en l'organisme immunisat.

Per lo que's refereix al organisme normal, ja s'ha dit que l'opsonina es idèntica al complement (6*). Està clar, que això vol dir la seva complicació estructural. Ho proven les delicades experiències de Neufeld, Cowie, Hata y Meyer (7*).

L'alexina, diu Sleeswijk, pot fixarse unicament per medi d'una sensibilitriu normal o específica y'l poder opsònic d'un serum, se redueix a l'acció combinada dels dos cossos.

(1*) La sola enumeració de les mateixes la trobarà'l lector a l'obra d'En Milhit, p. 80 y a l'article de Wolfsohn: Sobre vacunoterapia, de l'obra d'En Wolff-Eisner: *Sueroterapia y Terapéutica experimental*, p. 294. Traducció del Prof. García del Real. Calleja. Madrid.

(2*) Cit. per Milhit, pp. 51-52.

(3*) *Onderzoekingen over opsoninen*. Tesis doctoral. Amsterdam, 1908.

(4*) An experimental enquiry into the nature of the Substance in serum which influences phagocytosis (*Proc. Roy. Soc. Biol.*, 1905).

(5*) Wolff-Eisner. *Klinische Immunitätslehre und Serodiagnostik*, 1910. Fischer. Jena. P. 113.

(6*) Sleeswijk. Über den Bau der Opsonine. *Centralb. f. Bakter. I. Origin.* t. XLVI, 1908, p. 513.

Muir y Martin. On the combining properties of opsonins of normal serum (*British medic. Journ.*, 1907, t. II p. 1783).

Notes de Levaditi, de Inmann y Kessler a la Soc. de Biologie, 1907.

(7*) L. c. a l'obra de Wolff-Eisner: *Sueroterapia y Terapéutica experimental*.

opsònich petit, sent, en cambi, molt variable en els de la segona (subnormal, normal o doble o triple que'l normal).

Wright y Reid (1) s'expliquen la diferencia del índex opsònich, en aquestes dues classes de malalts, de la manera següent: l'índex opsònich baix, en l'infecció estrictament localisada, seria senzillament la traducció d'un estat que precedeix a l'infecció y fins la favoreix. La persistència del índex opsònich petit, després de l'aparició de l'infecció y'l seu augment per medi d'inoculacions apropiades, demostra que'l mecanisme defensiu, de que està dotat el malalt, no actúa espontàniament, per condicions inherents a la mateixa localisació del procés.

En cambi, les grans variacions del índex opsònich en els malalts de procés actiu, indiquen, sens dupte, l'ingrés periòdich, en plena circulació, de productes procedents de la lesió y la reacció consecutiva del organisme. Els índexs baixos son fases negatives, els alts fases positives y'ls normals representen el pàs entre dites fases.

Ara, al unir-se la vacuna inoculada ab els elements bacteriotròpichs del organisme, se presenta la fase negativa, caracterisada per la disminució de les substancies protectores. Aquesta pèrdua, es compensada per la hiperproducció d'anticossos, producte de la major activitat celular, que reacciona a l'acció del antigen, constituint-se la fase positiva, que persisteix per més o menys temps pera retrocedir després ab lentitud.

En el treball sobre les opsonines que en Sayé y jo vàrem fer, tinguerem ocasió d'observar que no sempre es possible descobrir la fase negativa de la curva opsònica, al dia següent a l'injecció de tuberculina, lo que atribuïem a la fugacitat de dita fase. En els estudis de la fagocitosis dels esputs que ara he practicat, també he notat, com es lògich, la presencia de la fase negativa — exemples en les gràfiques 1, 2, 3 y 4 — si be moltes vegades, tampoch l'hi observada a les 24 hores després de l'injecció.

Estich plenament convensut, de que les autoinoculacions, que tenen lloch en la tuberculosi activa, impideixen la manifestació clara dels fenòmens que's busquen ab l'immunisació artificial, impeding moltes vegades la comparació de les gràfiques obtingudes, ab les esquemàtiques aplicables an aquests casos; es dir, molt sovint, per dites autoinoculacions, deixen d'observarse en la curva opsònica o fagocitaria els efectes que eren d'esperar, consecutivament a l'inoculació d'una vacuna, pertorbant-se la relació de causa a efecte establerta a priori.

D'aquí la considerable dificultat d'aquests estudis en la tuberculosi activa. Crech que ab això's sintetisa l'afirmació, tantes voltes repetida, de la variabilitat del índex opsònich.

(1) *Proceedings of the Royal Society B.* Vol. 77. 1906. Über die Möglichkeit, das Vorhandensein oder Fehlen einer Tuberkelinfektion durch Untersuchung von Blut und Gewebsflüssigkeit eines Patienten zu bestimmen. Pàg. 92 de l'obra de Wright citada.

Aquesta dificultat no's limita a les investigacions, quan tendeixen, com les d'aquest treball, a un fi purament especulatiu, sino que s'extén igualment pel terreny de la pràctica, si's preté l'aplicació del índex opsònich y de la fagocitosis dels esputs al tractament tuberculínich.

El resultat immunisador de les autoinoculacions depèn de les dosis y dels intervals en que's verifiquin.

Se comprèn clarament, que en el curs espontani de la tuberculosi activa, aquestes condicions de temps y dosificació son molt variables y per lo tant l'immunisació natural ha de resultar molt irregular. Per això, ab l'immunisació artificial metòdica y lentament progressiva, s'atenuen o aboleixen en lo possible els insegurs y molt sovint desfavorables resultats de la natural.

Però ademés de les autoinoculacions, l'estudi objecte d'aquest treball presenta una altre dificultat y es que, tant a l'obtenir l'índex opsònich, com al valorar la fagocitosis dels esputs, crech que determinem, en el fons, solament un dels principals factors que formen el complicat mecanisme de l'immunitat en la tuberculosi. Y aquest factor, que per altre banda ofereix tantes dificultats pera la seva justa apreciació, té, al meu entendre, una importancia molt secundaria respecte del altre.

Segons la teoria de Wolff-Eisner, que cada día compta ab més partidaris, la lisina es l'anticòs que disgrega la molècula tuberculínica, en sí relativament poch tòxica, en altres agrupaments moleculars, més petits, als que s'atribueix la veritable toxicitat. Verossímilment, aquests productes, endotoxines, tenen que estimular la producció d'anticossos que an ells s'oposin. De manera, que ab aquells mètodes, podem determinar la lisina, mes no es possible l'apreciació de l'*anti-tuberculinalisínisada*.

Y com que, al meu entendre, el paper principal de l'immunitat a la tuberculosi correspòn an aquests anticossos secundaris o be a altres mecanismes de neutralisació de l'endotoxina, d'aquí que considero com molt incomplertes les experiencies d'índex opsònich y de fagocitosis dels esputs, practicades com a control de l'immunisació artificial.

Opino que l'aspiració d'aquesta, té d'esser la producció de gran quantitat d'anticossos secundaris, pera neutralisar no solament l'acció de la tuberculina injectada y lisi-nisada sino la procedent de les autoinoculacions, sobrevingudes per diferents motius.

En cambi, l'hiperproducció d'anticossos primaris (lisina), no acompanyada de lo mateix, per lo que's refereix a anti-tuberculinalisínisada, se tradueix en la gràfica opsò-nica, per pronunciat mitridatisme, lo que precisament representa hipersensibilitat. Lo que generalment succeeix, es que l'augment dels dos anticossos es simultani y per això, encara que d'una manera incompleta, repeteixo, la gràfica opsònica pot donarnos una idea de la marxa de l'immunisació. Al tenir lloch, donchs, l'hiperproducció d'un

anticòs, es lícit suposar, que al mateix temps se verifica la dels altres, per això, al examinar en conjunt les meves observacions, he pogut veure la relació que entre la gràfica tèrmica y la conducta de la curva fagocitaria existeix: la regularitat o irregularitat d'aquella's reflexa en aquesta.

En un dels meus malalts, he estudiat la fagocitosis dels esputs, desde'l comensament del tractament tuberculínic y he pogut observar l'aument progressiu del tant per cent fagocitari, a mida que'l tractament avansa.

Ara, analisant, estudiant detingudament els datos isolats de les gràfiques, crech haver fet curioses observacions sobre la naturalesa de l'opsonina específica y de les seves relacions ab la temperatura. Mes aquí's topa ab l'immensa dificultat de no poder apreciar de la mateixa manera que l'opsonina, la presencia y acció dels anticossos secundaris, disposant únicament, com a medis d'estudi d'aquests anticossos, la temperatura y'l quadre clínich. No obstant, es lògich suposar l'existencia y l'actuació d'aquests anticossos secundaris en els casos en que, a priori, s'espera una acció de la lisina y aquesta no's presenta.

Per dit motiu, l'estudi de l'opsonina específica y els seus efectes per medi de l'investigació de la fagocitosis, té grans limitacions y pel nombre bastant considerable d'observacions que porto fetes, he deduit les següents conclusions sobre la seva naturalesa y efectes.

En primer lloch, he cregut veure en els meus estudis, una confirmació de l'opinió de que l'opsonina específica es idèntica a la bacteriolisina.

En aquesta, he vist els efectes del anticòs lítich de la teoria de Wolff-Eisner.

Ab molta freqüència he observat la disminució del poder bacteriolítich (1), si la temperatura del vespre del día anterior es lleugerament febril.

Les gràfiques (G. 5) ho comproben.

Això sembla indicar el consum de lisina en la producció dels efectes tèrmichs citats.

En altres casos he observat temperatures no habituals en la gràfica, per lo baixes, coincidir al mateix día o al següent, ab un descens del poder fagocitari. Exemples en les gràfiques 6.

Altres vegades, al ascens tèrmich d'un día, correspon també'l fagocitari: (G. 7). En les preparacions del día 18-XI(1) de la (G. 7), s'observen hermosos y nombrosos fenòmens de degeneració dels baccils (vegis la part final d'aquest treball).

En altres ocasions, si l'elevació de la temperatura té lloch durant alguns dies, m'ha sigut possible observar l'elevació simultània del valor bacteriolítich.

(1) Com he dit abans, al descriurer la tècnica, els esputs examinats són els que expulsa'l malalt al llevarse, per lo tant, totes les observacions se refereixen al valor bacteriolítich que presenten a dita hora.

En les gràfiques 8 y 9 se pot veure la comprovació.

En un dels malalts, he observat repetides vegades, l'aparició d'esputs hemoptòichs consecutivament a xifres fagocitaries elevades. Me contento ab citar el fet, sense deduir del mateix cap conclusió, per tractarse d'un fenòmen propi unicament d'aquest malalt y que no he comprovat en cap altre. ¿Podria esser degut també al efecte lítich de la gran quantitat de l'opsonina específica, indicada per l'elevat tant per cent fagocitari?

De manera, que malgrat els inconvenients considerables del estudi (impossibilitat de demostrar directament els anticossos secundaris; autoinoculacions), m'he pogut formar una idea del paper de la lisina en l'immunisació y especialment de les seves relacions ab la gràfica tèrmica.

En resúm: la lisina té en els fenòmens reaccionals de l'immunisació, veritable importancia, com a factor primari, encara que, al meu entendre, inferior en categoria a la tuberculina lisinisada.

La lisina, anticòs primari, disgrega a la tuberculina, en agrupaments moleculars d'alta toxicitat, que s'adapten als receptors fixos de les cèlules. Segons l'intensitat y duració del contacte, l'impressió d'aquestes, dóna lloch a la reacció (febre y demés fenòmens) y a l'hiperproducció d'anticossos secundaris, si les condicions hi son apropiades, que les guardaràn d'altres atachs violents.

Examinats els fenòmens del mecanisme defensiu de l'infecció tuberculosa, que's desprenen de l'observació curosa de la fagocitosis dels esputs, me correspòn, ara, l'estudi de les modificacions que presenten els dos factors visibles de la lluita, el leucocit y'l baccil, pera deduirne, igualment, les conclusions de caràcter general més llògiques. En concret: fins ara m'he ocupat del aspecte quantitatiu de la fagocitosis, faltant únicament l'exàmen del qualitatiu, que es el que vaig a empendre.

Per lo que's refereix al leucocit, diu Löwenstein (1) que en ell no s'observa cap senyal de decadencia: el nucli's tenyeix bé y molt sovint, el contorn protoplasmàtic es perfectament visible.

Per la meva part, fundantme en les observacions realisades, no puch deduir una norma de conducta general del leucocit devant de la bacteria fagocitada.

Molt sovint he vist el leucocit ab el nucli bastant ben tenyit o be al contrari, tenyit d'una manera deficient y en cambi, 'ls baccils fagocitats presenten els fenòmens de degeneració que després citaré. Altres vegades, oferint el nucli aquests meteixos caràcters, les bacteries se conserven íntegres y sense cap pèrdua aparent de l'àcido-resistencia.

(1) Ein Beitrag zur Histologie des tuberculösen Auswurfes (*Zeitschr. f. Tuberk.* 1906, B. 10, H. 1, p. 51).—Ueber die intrazelluläre Lagerung der Tuberkelbazillen im Sputum und ihre prognostische Bedeutung (*Deutsch. med. Woch.* 1907, N.º 43, p. 1779).

Aquestes diferències obeeixen, sens dubte, a les variables modalitats del procés que té lloch entre abdos elements, modalitats, que per la seva delicadesa, escapen al nostre anàlisi. Y el resultat de dit procés, es natural que depengui, per una banda, del poder patògen de la bacteria y per altra del lítich o defensiu del leucocit.

En conformitat ab aquestes idees, se mostren les dues observacions representades en les figs. 1 y 2.

En l'Obs. fig. 1, sembla que la proximitat del baccil 1, enter e intensament tenyit, ha sigut perjudicial pera'l nucli 4. En cambi, en la fig. 2, si bé'l nucli 3 se presenta també ab la coloració defectuosa, 'l baccil 2 ofereix els caràcters evidents de necrobiosis y la dilatació final (forma de resistència?) de que després parlaré.

Els baccils, diu Löwenstein, se situen per entre'ls nuclis y la majoria de les vegades en parts del protoplasma, no tenyides y irregularment limitades.

La fig. 3 es la única observació que he fet que més s'assembla an aquesta descripció.

Tot això per lo que's refereix al fagocit. L'estudi de les modificacions que experimenta'l baccil, ja es més complicat.

L'aspecte dels baccils fagocitats, no permet, molt sovint, treure la conclusió, de que hagin sofert cap alteració d'estructura y de colorabilitat (Löwenstein). No obstant, el mateix autor sosté, que devegades, mostren senyals de degeneració que es precisament lo que he observat ab molta freqüència.

Els baccils han perdut en part l'àcido-resistència y tendeixen a adquirir la forma d'estreptococh.

En l'Obs. fig. 4 la tendència a la fragmentació sembla iniciarse, s'accentúa en 5, y en 6 y 7 l'aspecte d'estreptococh es típic.

Devegades aquest procés degeneratiu segueix endavant y's presenten les formes de les Obs. figs. 8 y 9, ahont els fragments son irregulars y de coloració molt feble.

En l'Obs. fig. 8, el baccil 1 presenta una granulació terminal, refringent y intensament tenyida, que fa l'impressió d'una forma de resistència.

Aquest aspecte morfològich del baccil tuberculós, sembla correspondre al indicat per Sciallero (1), en els conills porquins immunisats. Aquest baccil, en forma de cap-gròs, descrit per aquest autor, se caracteriza per l'acumulació en un dels seus extrems de la substancia cromotòfila y per l'estat de disolució del reste del protoplasma que sembla la qua.

Aquesta forma baccilar, l'he observada bastant sovint.

Les Obs. figs. 12, 14 y 15, demostren que aquesta granulació especial, no sempre's

(1) *La Clínica del prof. E. Maragliano* (1881-1907). Vol. II, p. 9. Societá editrice libraia. Roma, Milano, Nàpoli, 1908.

troba al acabament del baccil, sino que també pot ocupar diferents porcions del cos de la bacteria y además tampoch es sempre única. Obs. fig. 14.

Devegades, aquestes granulacions, se veuen isolades, al interior del fagocit. Obs. 16 y 17.

Altres cops, son extraleucocitaries y'l reste del baccil endocelular. Obs. figs. 18 y 19.

Es dir, com si'l baccil coluqués la forma de resistència fòra del medi perjudicial del protoplasma.

L'Obs. fig. 20 representa un baccil fagocitat en el que's veu, ab tota claretat, un segment incolor 1 y que ha perdut per lo tant l'àcido-resistència. No's tracta d'una fragmentació, com en l'Obs. fig. 21, ja que'l baccil presenta la seva continuïtat, com ho demostra'l contrast de la porció no tenyida, ab el fons lleugerament blau del protoplasma del leucocit.

En l'Obs. fig. 21, que sembla un grau més avensat del procés, hi ha freqüentació y terminació granulosa.

També he observat la presència de dues granulacions, dels caràcters morfològichs y de coloració coneguts, en els extrems d'un baccil-estreptococh. Obs. fig. 22.

Una actitud, que també sembla de resistència, adopten de vegades els baccils, tantantse en càpsules que's tenyeixen per la fuxina. En aquests casos, els exemplars de la càpsula se presenten intensament rojos y en cambi les porcions que dels mateixos surten de la càpsula y per lo tant, no estàn protegides, sofreixen metamorfosis degeneratives. Obs. figs. 23, 24 y 25.

Aquestes metamorfosis regressives, també s'observen en els baccils no fagocitats del esput, lo que no té res d'estrany, tenint en compte'l concepte modern de la bacteriolisina. Aquesta, com ja queda dit, es una substància que's forma en l'organisme, per medi de l'injecció de bacteries o dels seus derivats y que té per funció la dissolució de les bacteries (baix l'acció del complement extracelular), o la seva preparació pera ser agafades y digerides pels leucocits (ab l'ajuda, verossímilment, del complement endocelular).

Al meu entendre, aquestes variacions morfològiques (baccils-estreptocochs, ab granulacions resistents y demás) són resultat del procés defensiu del organisme.

El baccil d'aspecte estreptocòcic, correspònd segons l'opinió més extesa (1), a les formes benignes, atenuades de la malaltia, lo que en el fons, significa, defensa provocada o espontània.

Aquestes modificacions de l'estructura y colorabilitat del baccil tuberculós, han sigut detingudament estudiades pels deixeples de Maragliano.

(1) Treballs de Mircoli (*Gazetta Ospedali*, 42-1900, 49-1905). *La Clínica del Prof. E. Maragliano*.

Marzagalli y Sciallero, han examinat en els conills immunisats les evolucions que experimenta'l baccil tuberculós, fins la seva completa destrucció. El procés comença per la formació de vacuoles en el cos de la bacteria, pera passar a la forma d'estreptococh, en quin estat pot persistir per bastant temps o be al últim les granulacions se disgreguen, conservant o no la coloració específica.

La fig. 26 representa una observació meva, referent a un baccil en un període avensat de l'evolució.

Goggia (1) ha estudiat aquests fenòmens de necrobiosis del baccil tuberculós, en primer lloch en l'experimentació, injectantlo subcutàniament a animals normals (conill porquí, ase y gos), a animals abans immunisats (conill porquí y ase) y a animals ja tuberculosos, y en según lloch a la clínica.

En els animals normals, els fenòmens no's presentaren ab la mateixa pressa en tots ells, lo que's comprèn, per la variabilitat de la resistència natural d'un animal ab relació al altre. En el conillet d'Indies, al quint día, encara'ls baccils tenien els mateixos caràcters que en el cultiu y ni tan sols estaven fagocitats. La seva desaparició absoluta es tardana, als 25 o 30 dies encare son visibles. En cambi, en l'ase y especialment en el gos, els fenòmens se presenten molt més ràpidament: en aquest últim animal al día 10 ja no se'n troben.

En els animals abans immunisats, la necrobiosis se presenta molt més aviat. Per ex., en el conill porquí, es accentuadíssima, aixís com la fagocitosis, al quint día y al desé els baccils han desaparecut totalment.

En els animals tuberculosos, la destrucció del baccil es més enèrgica y's presenta més aviat en els que la malaltía té menys temps, lo que es llògich, per l'atenuació del procés defensiu quan la malaltía es més antiga.

En la clínica, Goggia ha vist la presentació dels baccils fragmentats y la seva disminució a consecuencia de l'ús del serum bacteriolítich.

Aquest mateix autor en 1902 y per consell de Maragliano, va estudiar el fenòmen de la fagocitosis del baccil tuberculós en els animals y les modificacions que pot experimentar a causa de determinades influencies (2).

Les investigacions se practicaren per medi d'injeccions de petites quantitats de baccils: 1 o 2 mgr. subcutàniament o en la cavitat peritoneal.

En aquestes experiencies en el peritoneu s'ha produït abans lo que'ls autors alemanys ne diuen *Resistenzphänomen*, es dir, una invasió de leucocits provocada pel

(1) I fenomeni di necrobiosi presentati dai bacilli tubercolari iniettati sotto la cute degli animali. 1905. Genova Ved. Papini e Figli (*Estratto dagli Annali dell' Istituto Maragliano*. Fasc. I, 1904). — Osservazione clinica e microscopica intorno alle modificazioni morfologiche del bacillo tubercolare nell' espettorato. (*Dagli Annali dell' Istituto Maragliano*. 1906.)

(2) Investigaciones acerca de la importancia de la fagocitosis en la infección experimental por los bacilos tuberculosos. (*Clinica del Prof. E. Maragliano* (1881-1907), t. II, ps. 110-111-112.)

caldo estèril. Un cop produída aquesta inflamació en la serosa peritoneal, s'injecta una emulsió fina de baccils tuberculosos, al objecte d'averiguar les contingencies que experimenten.

El resultat d'aquestes experiencies no té cap fixesa quan el serum es normal. En cambi, si, al mateix temps que l'emulsió, s'injecta serum d'un animal immunisat, la fagocitosis es cada vegada més activa desde'ls primers moments.

Si dita experiència's fa en un conillet d'Indies o conill abans immunisat per medi d'injeccions de bacteriolisina, s'observa un cert paralelisme entre'l poder fagocítich local y'l de la sang (in vitro ab leucocits de la sang, tècnica de Wright), paralelisme que no's pot demostrar quan els animals no han sigut anteriorment sotmesos a dit tractament.

Després Goggia va observar que'ls animals en que s'ha provocat la leucocitosis peritoneal, resisteixen millor la infecció experimental local que la general intravenosa.

De tot això se'n desprenen les següents importants conclusions:

I. L'eficacia de la fagocitosis en la destrucció de la bacteria, en el punt inicial de la seva implantació.

II. La major intensitat de la fagocitosis per l'acció, ja local ja general, de les substancies defensives específiques, artificialment introduïdes en el organisme.

Donats els nostres coneixements actuals, no deixa d'extranyar l'afirmació d'alguns autors, entre ells Bartel y Neumann (1), referent a la inutilitat de l'acció fagocitaria, en el mecanisme defensiu contra el baccil tuberculós.

An aquest propòsit, es convincent l'interessant experiment de Marmorek (2). Injctant en el peritoneu d'un ratolí — animal quasi refractari a la tuberculosi — una emulsió de baccils, feta ab una solució de clorhidrat de quinina, se'l fa receptiu per haverli paralisat l'aparell fagocitari.

Markl (3) ha demostrat la fagocitosis y la pèrdua de la colorabilitat dels baccils injectats en la cavitat peritoneal del conill porquí. Lo mateix pot observarse en els no fagocitats, lo que l'autor atribueix als productes de disgregació dels leucocits.

Per la meua part, en les observacions que he fet de la fagocitosis dels esputs relatives totes a malalts tuberculinisats, he vist les formes de necrobiosis del baccil tuberculós, ja en l'interior dels leucocits, ja en els baccils extracelulars, lo que's llògich, donat el concepte modern del procés bacteriolítich; no obstant, devegades he observat ab completa claretat com el baccil parcialment fagocitat ofereix solament la modificació necrobiòtica en la porció endocelular. Obs. figs. 27, 28 y 29.

(1) Leucocyt und Tuberkelbacillus. (*Centralbl. f. Bakter.* I Origin. t. XL, 1906, pp. 723-738.)

(2) Beitrag zur Kenntnis der Virulenz der Tuberkelbazillen. (*Berl. klin. Woch.*, 1906, 12 mars, pp. 328-329.)

(3) Ueber den Mechanismus der Abwehr der Organismus bei Infection mit Tuberkelbacillen. (*Centralbl. f. Bakter.* I Origin. t. 38, 1905, pp. 69-73.)

Altres vegades això succeeix en algun exemplar no fagocitat. Obs. figs. 30 y 31.

Tot això sembla indicar, que en la evolució morfològica del baccil tuberculós, al període d'homogeneïtat, segueix el d'estreptococh, en virtut del procés lítich intra o extracelular.

Encara que no's vulgui concedir a l'acte fagocitari'l valor de l'immunitat que de lo dit sembla que se'n desprèn, els autors estàn d'acord en atribuir als leucocits la facultat de neutralisar substancies tòxiques.

Es molt coneguda la poca sensibilitat dels leucocits a les intoxicacions, en comparació ab els demás elements del organisme.

Aquesta facultat fou demostrada, en primer lloch, ab els verins minerals.

Besredka se valgué, pera això, del trisulfur d'arsènich, sal de difícil solubilitat. Els conills porquins, que han sofert una injecció intraperitoneal de la mateixa, no mòren intoxicats, si'ls leucocits s'apoderen dels cristalls del compost.

Més tard, Carles ha estudiat el mateix fenòmen ab les sals de plom.

Tenen pera nosaltres més interés, com es natural, les experiencies dirigides a probar el paper defensiu dels leucocits, devant de les toxines microbianes, essent especialment important pera nosaltres, la seva conducta devant de les endotoxines.

Els baccils tífichs morts y per lo tant inútils pera produir l'infecció específica, maten als conills porquins en 24 hores, quan se'ls injecta en la cavitat peritoneal, a causa de les endotoxines que posen en llibertat. Mes, si en el lloch de l'injecció's provoca anteriorment, una hiperleucocitosis localisada, els fagocits s'apoderen dels baccils y de les seves endotoxines y'ls animals se salven (Besredka).

Al apoderarse dels verins, els leucocits per ser elements relativament poch sensibles a l'intoxicació, preserven a les cèlules nobles, com les nervioses, del fetge y demás (1).

En l'animal vacunat, diu Petterson (2), l'immuncorp, accelera y reforça la fagocitosis y contribueix a l'eliminació més ràpida y més complerta del veneno per medi dels leucocits.

En la tuberculosi, la lisina per la seva acció sobre la tuberculina, posa en llibertat les endotoxines, ignorantse, per ara, de quina manera l'organisme respòn a les mateixes.

L'idea, molt verossímil, de la producció d'anticossos secundaris, no ha rebut una comprovació experimental.

Encara no's pot afirmar ab seguretat, diu Wolff-Eisner (3), si en els tuberculosos

(1) Metschnikoff. Sur l'état actuel de la question de l'immunité dans les maladies infectieuses. Conferencia Nobel, Stockholm, 14 maig 1909. (*Bull. Inst. Pasteur*, 1909, nos 13 y 14.)

(2) Die Rolle der Leucocyten im Kampfe des Tierorganismus gegen die Infektion. (*Centralbl. f. Bakter. I Origin.* t. XLII, 1906, pp. 56-63.)

(3) Tratamiento específico de la tuberculosis. Pág. 230 del *Tratado de Sueroterapia y terapéutica experimental*. Calleja. Madrid.

després de l'administració de la tuberculina's formen ademés d'amboceptors lítichs, també les antiendotoxines. El problema de les antiendotoxines no està encare resolt.

Les endotoxines diu Pfeiffer no poden produir may antitoxina: no hi ha per lo tant un hàbit a l'acció de l'endotoxina (1).

No obstant, Besredka (2), valentse d'una tècnica especial, sembla que ha demostrat l'existència d'antiendotoxines tífiques.

El problema per lo que's refereix a la tuberculosi, està esperant la solució y Wolff-Eisner ha dit que fins avuy sols se pot dir que en el serum hi han substancies que poden saturar les endotoxines d'una manera semblant, més, molt més limitada que les antitoxines a les toxines.

Donats els fenòmens d'oxidació que en els leucocits se demostren y la sensibilitat que la majoria de les endotoxines y també de les toxines ofereixen en presencia de tals fenòmens, Wolff-Eisner (3) veu en els leucocits un recurs pera la desviació de les toxines dels receptors de les cèlules nobles.

Per lo tant, el problema capital de l'immunitat en la tuberculosi depèn, al meu entendre, del coneixement íntim de la neutralisació de l'endotoxina, ja pels anticossos secundaris, ja pels leucocits. Aquests, que en conjunt representen «un òrgan antitòxich y citolítich mòvil, que actúa com en més o menys escala'ls demés òrgans, per activitats essencialment químiques, que té les ventatjes de poderse traslladar, en virtut d'influències quimiotàctiques, als punts ahont la seva acció sigui més necessaria y d'augmentar de tamany (augment del nombre de leucocits) en els moments oportuns» (4) se troben en condicions especials pera portar a cap aquesta neutralisació, ja per lo que's refereix a les endotoxines llibertades per lisis extracelular, ja a les llibertades en el mateix interior del fagocit.

La solució definitiva d'aquest problema de la neutralisació de les endotoxines, lo mateix en la tuberculosi que en altres malalties endotòxiques, tindrà, sense cap mena de dubte, una transcendència enorme lo mateix en el camp purament teòrich que en el de la pràctica.

JOAN DARDER RODÉS

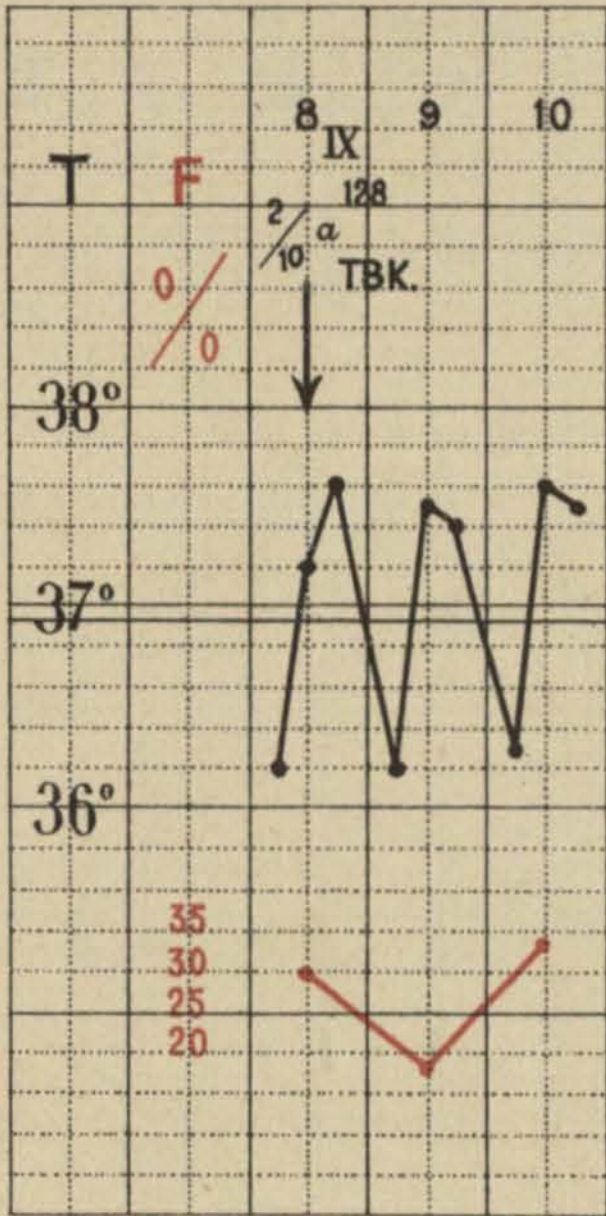
Facultat de Medecina, Barcelona.

(1) Sueros antitòxics y bactericidas, por el Prof. L. Michælis. Obra ant. p. 16.

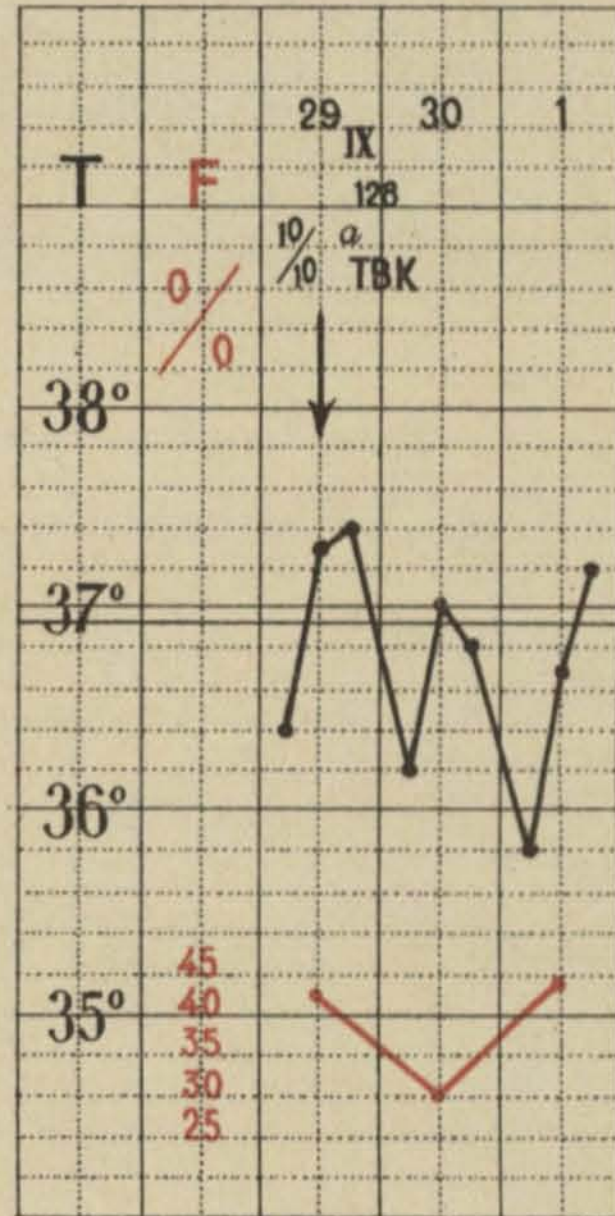
(2) De l'antiendotoxine typhique et des antiendotoxines en général. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. XXVI, 1906, p. 81-86.)

(3) Klinische Immunitätslehre und Serodiagnostik, p. 27. — Beiträge zur Kenntniss der morphologischen Vorgänge bei der Infection und Immunität. (*Berl. klin. Woch.*, 1903. N.ºs 17, 18, 19 y 20.)

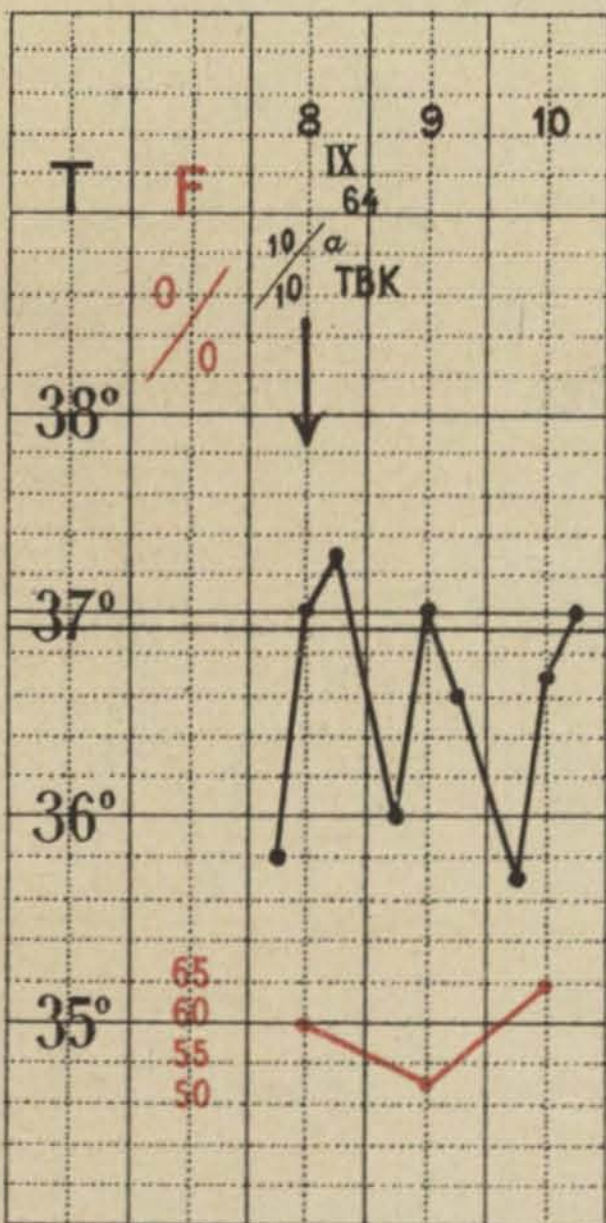
(4) Pi y Suñer y Rodrigo Lavin. *Tratado de Fisiología general*, 1909. p. 677. Gili. Barcelona.



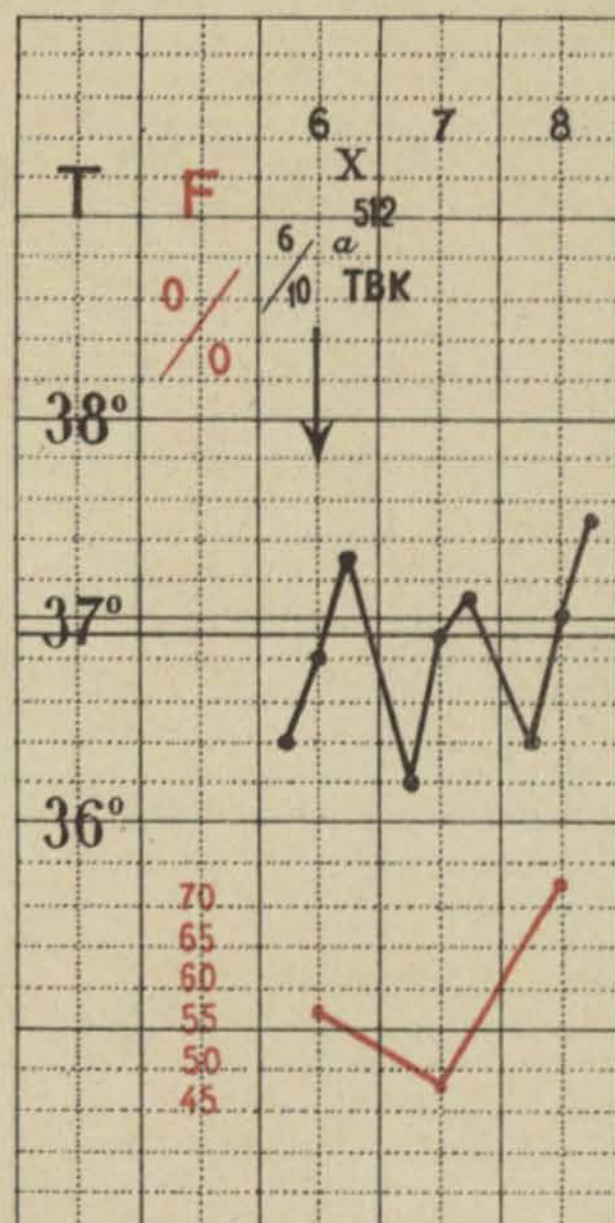
G. 1



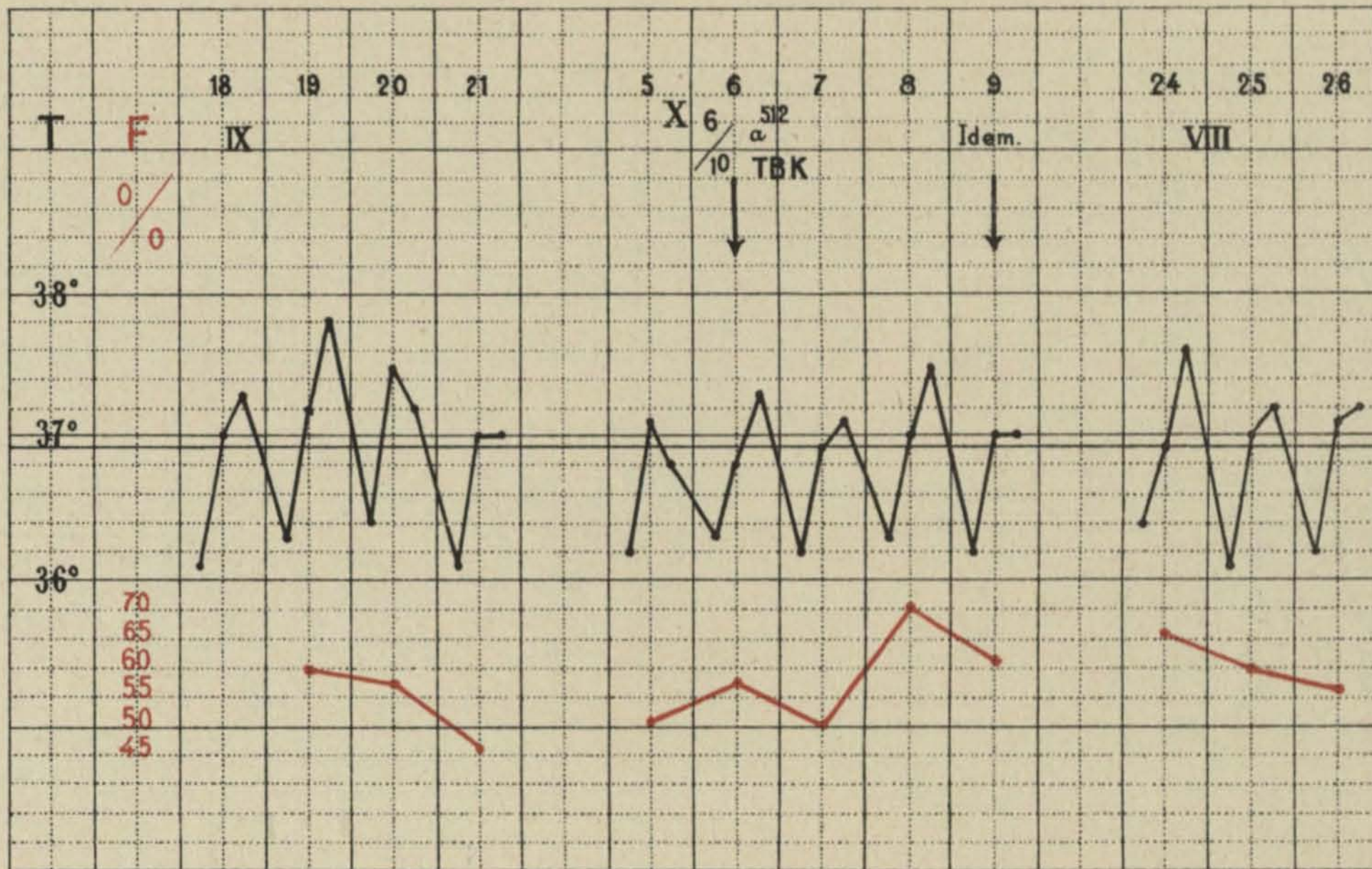
G. 2



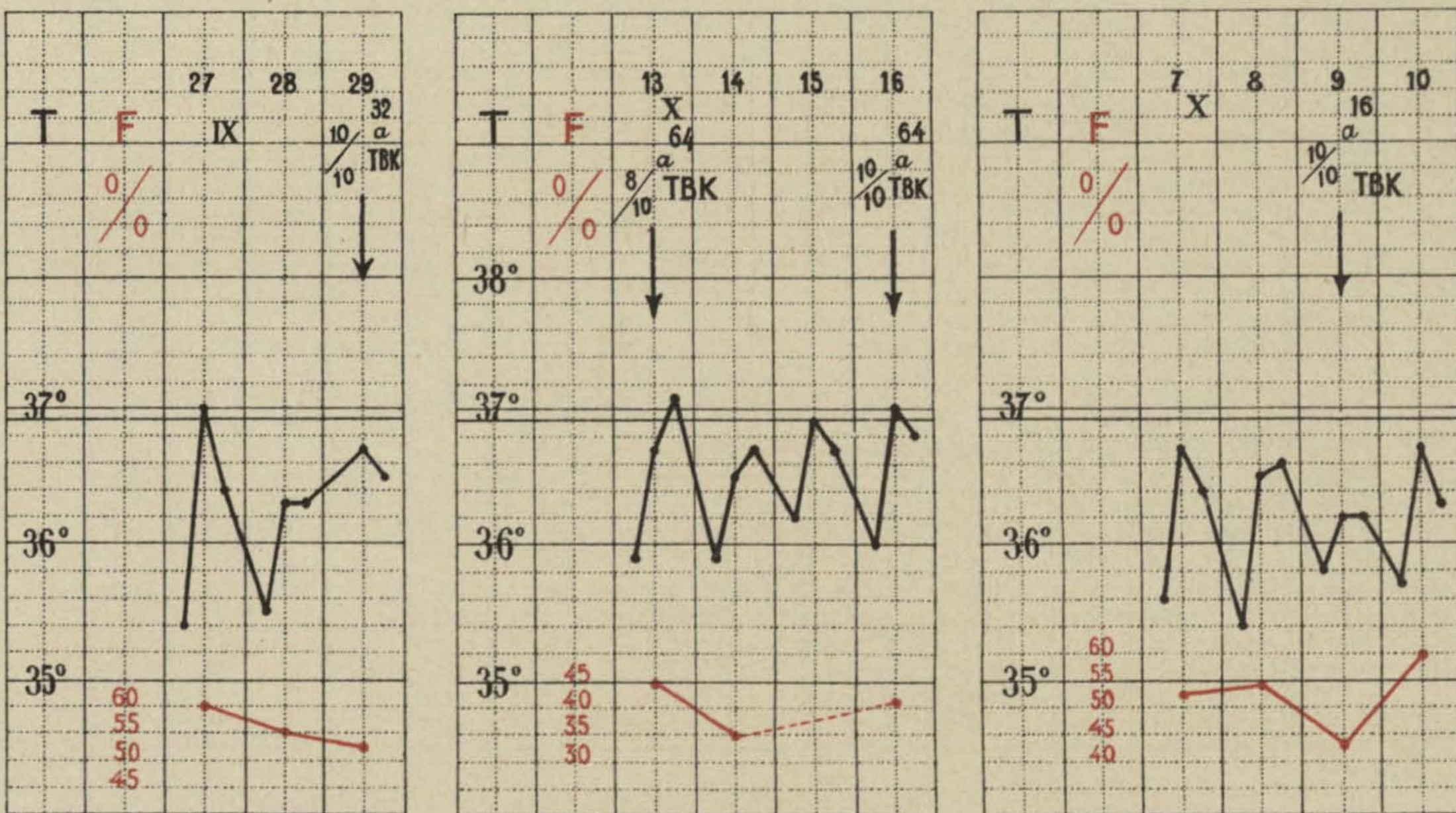
G. 3



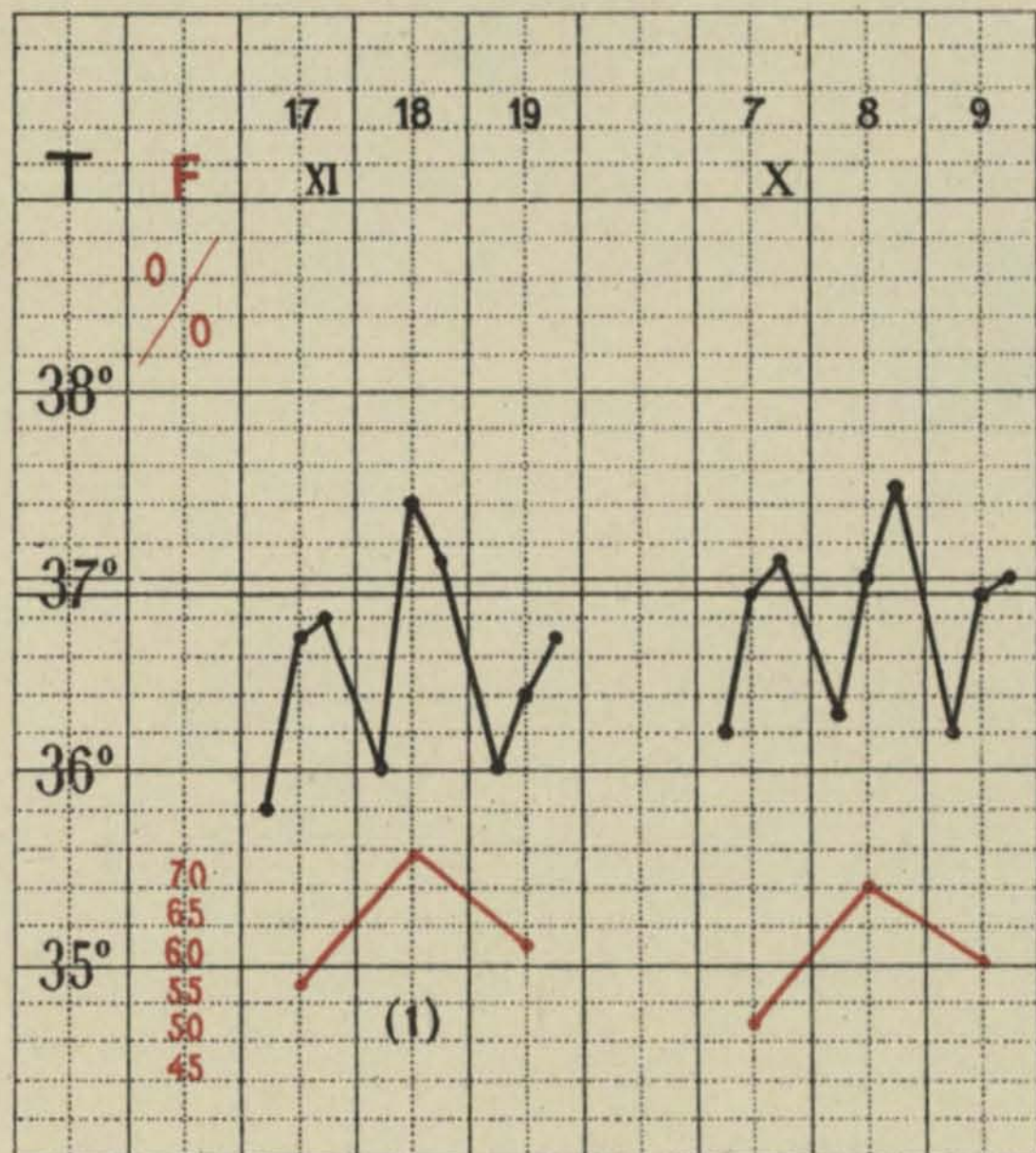
G. 4



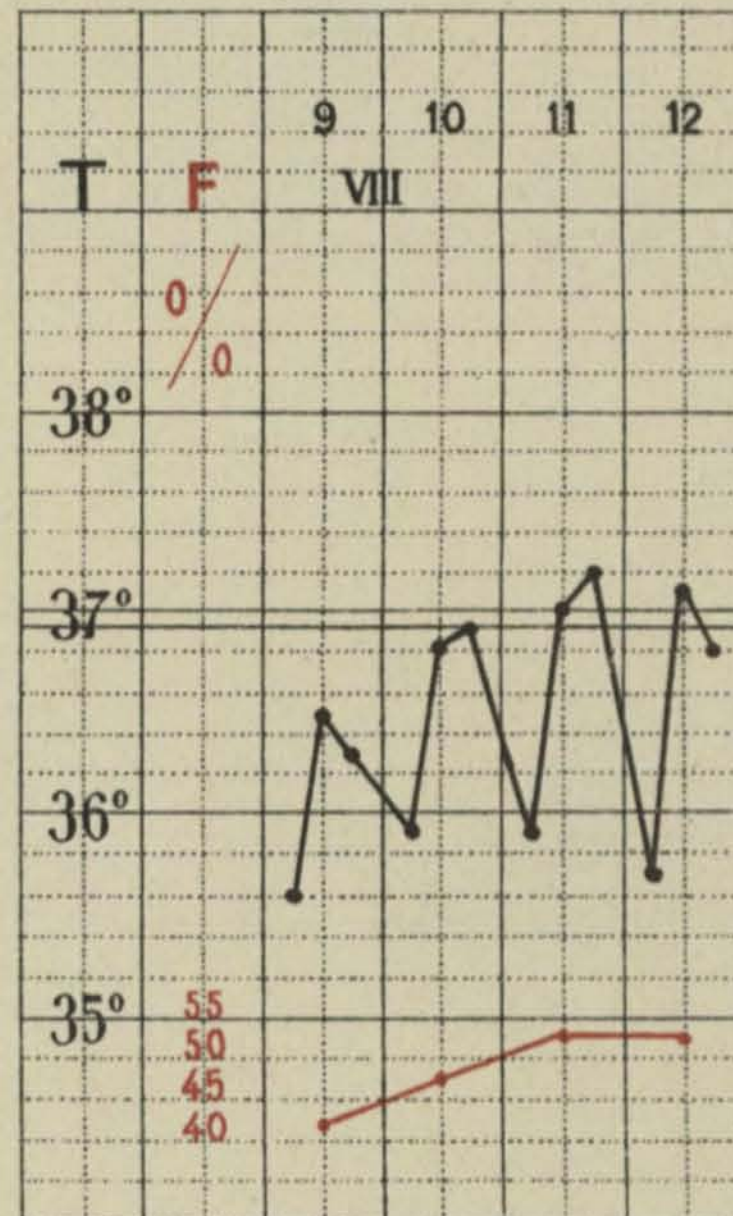
G. 5



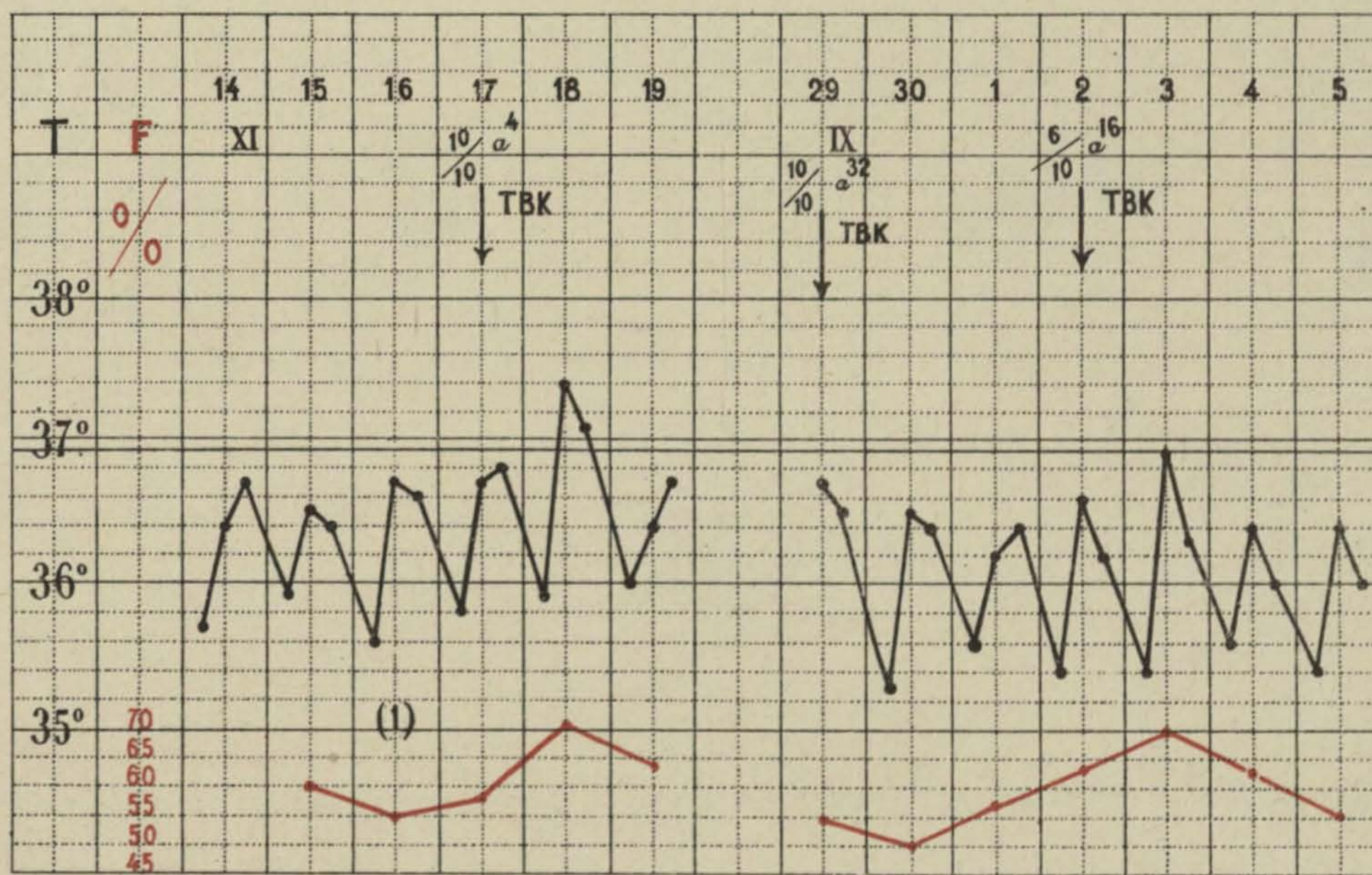
G. 6



G. 7

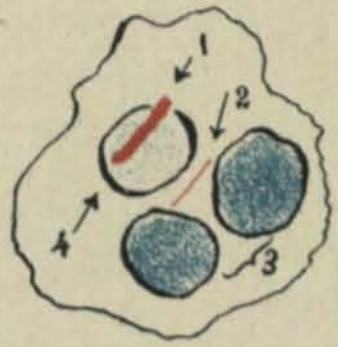


G. 8

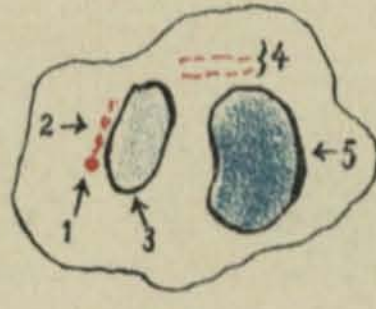


G. 9

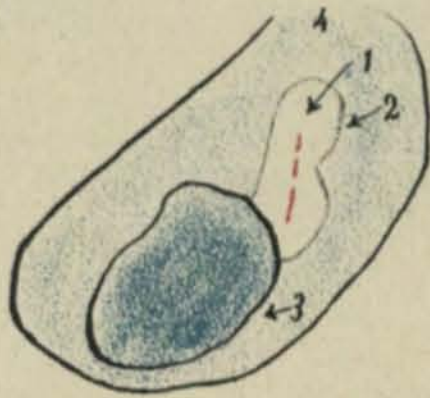
(1) G. 9. — Decoloració de les preparacions ab àcid nítrich nítrós, per equivocació.



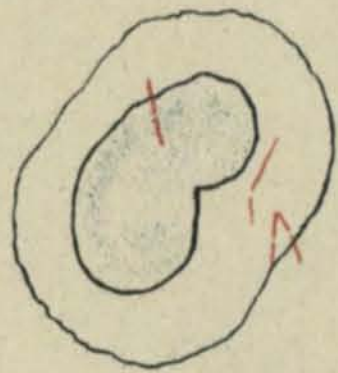
Obs. Fig. 1



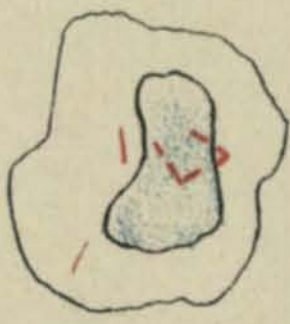
Obs. Fig. 2



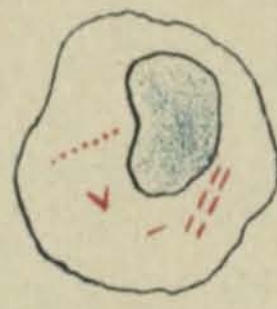
Obs. Fig. 3



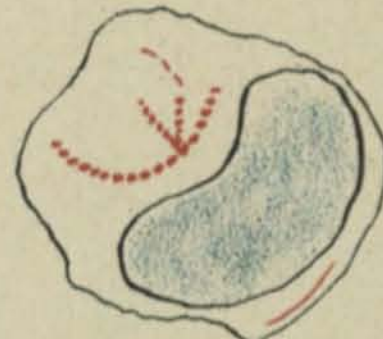
Obs. Fig. 4



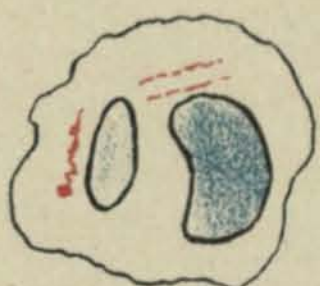
Obs. Fig. 5



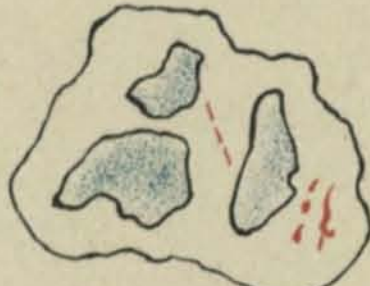
Obs. Fig. 6



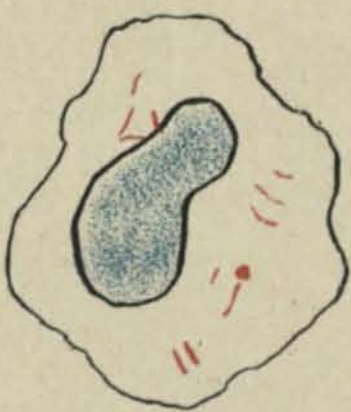
Obs. Fig. 7



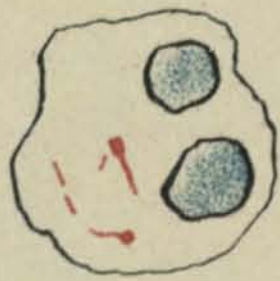
Obs. Fig. 8



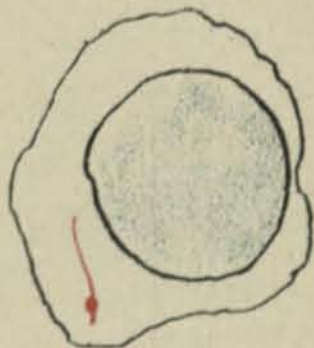
Obs. Fig. 9



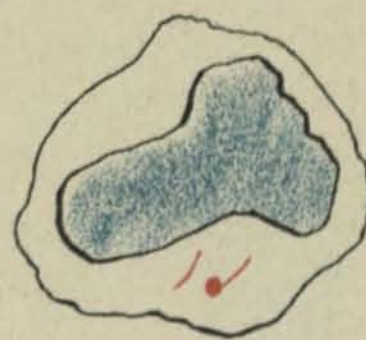
Obs. Fig. 10



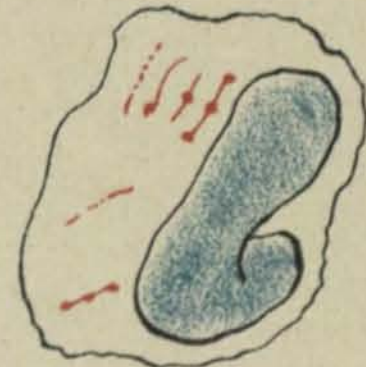
Obs. Fig. 11



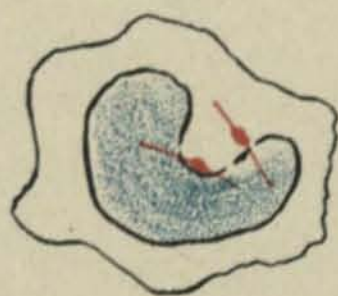
Obs. Fig. 12



Obs. Fig. 13



Obs. Fig. 14

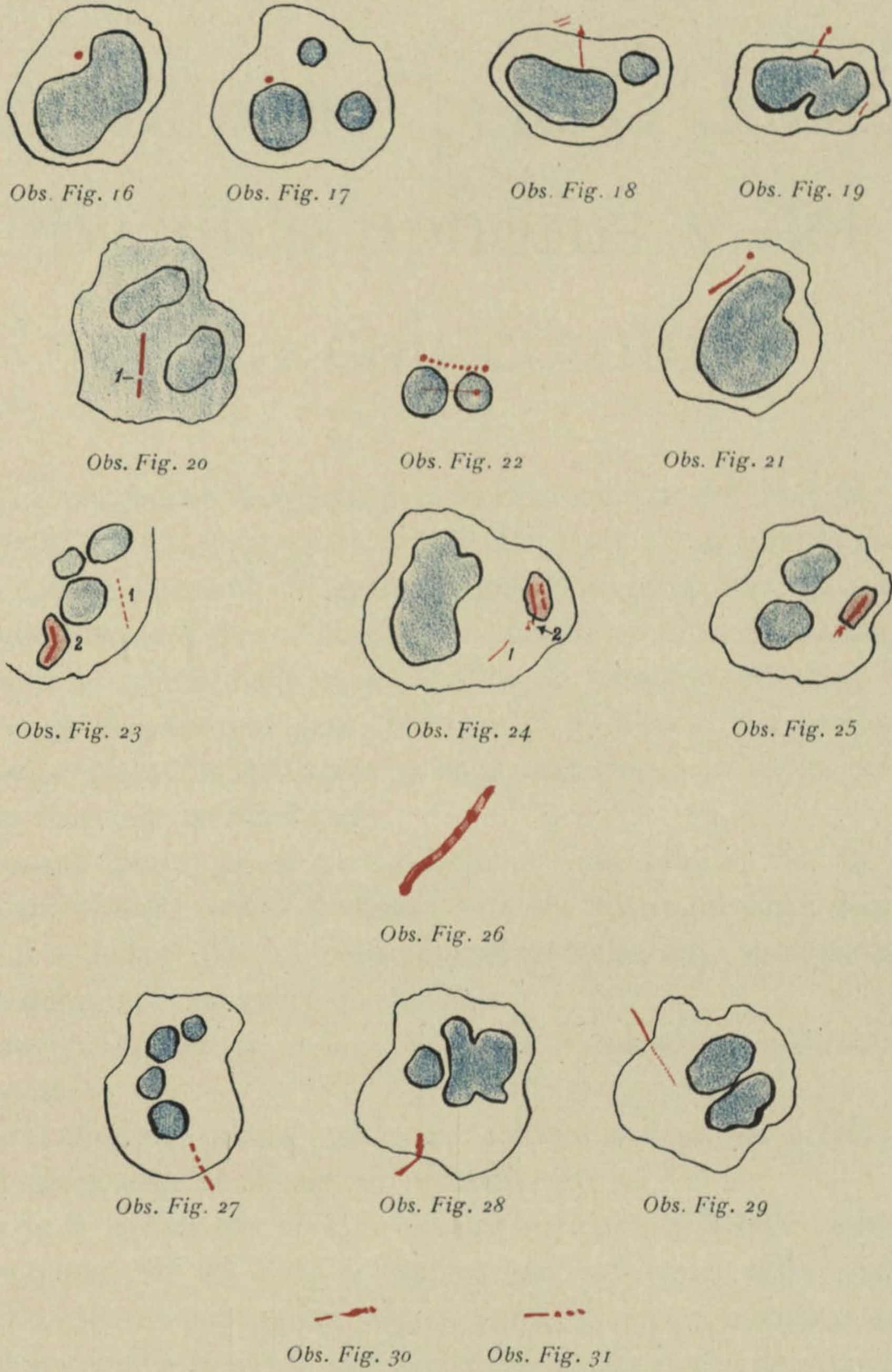


Obs. Fig. 15

Obs. Fig. 1: 1, bacil ben tenyit. 2, bacil poch tenyit. 3, nucli ben tenyit. 4, nucli poch tenyit.

Obs. Fig. 2: 1, dilatació final resistent?. 2, restes del bacil. 3, nucli poch tenyit. 4, bacils segmentats y poch tenyits. 5, nucli ben tenyit.

Obs. Fig. 3: 1, bacil segmentat y poch tenyit. 2, porció del protoplasma no tenyida que envolta al bacil. 3, nucli. 4, part de la membrana no visible.



Obs. Fig. 23: Nucli poch tenyit. 1, bacil degenerat. 2, càpsula lleugerament roja ab b. intensament tenyit.

Obs. Fig. 24: Nucli poch tenyit. Càpsula tenyida ab baccils intensament tenyits. 1, bacil degenerat. 2, porció que surt de la càpsula, degenerada y ademés despresa.

Obs. Fig. 25: Nucli ben tenyit. Càpsula de coloració violeta. Bacil encapsulat, ben tenyit. Porció sortint, degenerada.

