

Estas cuestiones han sido objeto hasta la época actual de las discusiones más vivas y de los más activos trabajos; parece que, por nuevos perfeccionamientos de los métodos, llegaremos al cultivo puro de los micro-organismos, es decir, á un término más preciso para las diferentes fermentaciones, tal como lo han aspirado Pasteur y los numerosos partidarios de la teoría germinativa.

OBJECIONES CONTRA LAS BASES DE LA TEORÍA GERMINATIVA

Objeciones contra la teoría germinativa.— En todo cuanto precede, la teoría vitalista está basada en un encadenamiento de hechos que permite suponer un desarrollo bien regular, difícilmente alcanzado por las objeciones. En realidad no ha sucedido así; por el contrario, aparecieron ya en otra época adversarios de la nueva teoría, quienes con mucha sagacidad pusieron al descubierto todos los puntos débiles de esta teoría. Con numerosas experiencias trataron de refutar las proposiciones aisladas de Pasteur y de sus partidarios.

En sustancia, estas objeciones eran las siguientes:

1.^a *Fermentaciones observadas á pesar de la falta aparente de micro-organismos.*— En numerosas experiencias diversos observadores han visto aparecer la fermentación y la putrefacción, hasta cuando se impidió por completo que penetraran micro-organismos. Se ha observado la putrefacción: en el interior de los cadáveres, en el contenido de huevos de gallina incubados, pero intactos; en fetos muertos de hombres ó de animales se han encontrado también con frecuencia fenómenos pronunciados de putrefacción; en casos análogos se han observado algunas veces las fermentaciones láctica, acética y butírica (Collin, Billroth, Hiller, Schröder, Hoppe-Seyler, Kühne). En numerosas investigaciones hechas por Hoppe-Seyler, Billroth, Tiegel, Servel, Paschutin, Sanderson, Nencky, etc., y en las cuales se han conservado sustancias con tantas precauciones que no podían haber tenido entrada los organismos, sin embargo, se observó la putrefacción. Notóse igualmente que la orina conservada con precauciones adquiría al cabo de algún tiempo una reacción alcalina y un olor de putrefacción (Collin, Billroth, Hiller, etc.). Además, se trató de destruir los micro-organismos por el calor (Bastian, Huizinga, etc.), ó por la adición moderada de fenol (por ejemplo, el 5 por 100 de la orina, Hoppe-Seyler), y, sin embargo, se produjo algunas veces putrefacción. Finalmente, se quitaron los organismos filtrando los líquidos putrescibles, y también entonces se vió en algunos casos aparecer la putrefacción y la fermentación de los líquidos filtrados y desembarazados de organismos (Helmholtz, 1843; Fleck, etc.),

En todos estos casos los observadores encontraron en los líquidos putrefactos, ó una carencia total de micro-organismos, y entonces la fermentación no podía efectuarse sino por influjo de fermentos químicos, cuya existencia y eficacia rebajaban el papel de los micro-organismos hasta convertirlo en completamente secundario; ora, á despecho de todas las precauciones tomadas, se encontraban organismos en el substrato putrefacto, y entonces los partidarios de la generación espontánea veían en esto una nueva prueba de la verdad de su doctrina. También en los últimos tiempos se sabe que Béchamp y Wigand se han declarado abiertamente partidarios de la generación espontánea de pequeños organismos procedentes del protoplasma celular muerto. Vieron nacer micro-organismos fuera de los más pequeños elementos formados por las células vegetales ó animales después de la muerte de éstas y después haberlas tenido, según dicen, completamente apartadas de todos los gérmenes exteriores; micro-organismos de una existencia independiente, que se movían y multiplicaban, y bajo cuya influencia se desarrollaban muy pronto la putrefacción y la fermentación.

A despecho de gran número de observaciones é investigaciones, la teoría germinativa no se ha quebrantado lo más mínimo por estos resultados divergentes. Nunca es demasiada la importancia que se dé al hecho, más arriba señalado, de que los resultados desfavorables en estas observaciones á la teoría vitalista coinciden siempre con faltas esenciales en la disposición de las experiencias ó con la inexactitud de la observación. En presencia de la enorme propagación de los micro-organismos y de su resistencia relativamente grande respecto á los agentes destructores, no es fácil encontrar disposiciones experimentales irreprochables para impedir la penetración de los organismos en las sustancias susceptibles de descomponerse. Sólo recientemente se ha establecido con exactitud la temperatura á la cual están muertos con seguridad los micro-organismos en todos los casos; actualmente puede afirmarse con entera certidumbre que los primeros observadores introducían ya fuentes de error en sus experiencias, no destruyendo por medio de una temperatura suficientemente elevada los gérmenes que quizá se adherían á los vasos que usaban. Estas sucesiones de ensayos en los cuales se evitan el caldeamiento y en general toda alteración de los materiales fermentescibles, con el objeto de no interrumpir la generación espontánea ó el desarrollo de la energía de los fermentos químicos, estos ensayos se comprende que son en extremo difíciles de llevar á feliz término. Sólo una gran práctica, al cabo de crecido número de fracasos, puede dar la experiencia necesaria para que semejante serie de ensayos se ejecute con un resultado uniforme. Si se contenta con un pequeño número de ensayos y si no se domina por com-

pleto el método, todas las preparaciones ó la mayoría de ellas contendrán inevitablemente organismos y serán asiento de la putrefacción y de la fermentación.

Si no se está alerta contra los orígenes de errores, si se cree haber tomado en cada experiencia todas las precauciones contra una contaminación procedente del exterior, con cada investigación defectuosa se conquistan materiales para probar la realidad de la abiogénesis y la hipótesis de una putrefacción sin micro-organismos. Claro es que no puede concederse valor alguno á tales resultados sino en el caso de que, reconociéndose como buena la práctica del experimentador, conduzca ésta de una manera constante á los mismos resultados.

Por el contrario, es cosa conocida que varios sabios (Marchand, Meissner y otros) han obtenido una gran serie de resultados que vienen en apoyo de la teoría germinativa. Sustancias de la naturaleza más alterable se han conservado largos años por la exclusión lógica de los organismos, y hay en estos ensayos un aumento en el tanto por ciento de experiencias logradas en visible relación con la práctica progresiva del experimentador.

Por efecto del conocimiento más preciso de las condiciones vitales y de destrucción de los hongos inferiores, es fácil actualmente repetir á voluntad las mismas experiencias con los mismos resultados. Sólo aquel que conserva ideas completamente falsas acerca de las particularidades biológicas de los micro-organismos y que no está al corriente de la técnica experimental moderna, es el único que puede llegar aún á resultados favorables á la generación espontánea. Los ensayos realizados no hace mucho tiempo por Wigand se ejecutaron con menosprecio de las experiencias hechas hasta aquí. Parte del principio de que no es muy grande la propagación de los micro-organismos ni el peligro de su penetración desde el exterior. Por eso Wigand no juzga necesario verificar esta hipótesis con la misma exactitud que otros lo han hecho. Así, los asombrosos resultados á que llegan los que pretenden haber observado fermentaciones y putrefacciones sin poder encontrar, sin embargo, micro-organismos en los líquidos en cuestión, estos resultados se fundan en errores, según lo podemos afirmar hoy día. Es una tarea difícil reconocer micro-organismos en los líquidos albuminosos que fermentan desde hace mucho tiempo. Pueden estar degenerados, transformados. En todos los casos es indispensable emplear los métodos especiales, sobre todo desarrollados en estos últimos años: desecación, coloración, etc. Anteriormente se ignoraban estos métodos y con frecuencia no se han encontrado entonces los micro-organismos; mas por eso no debe decirse que no existían verdaderamente en ningún momento de las investigaciones. Estos organismos no faltan jamás en las investigaciones modernas, si se tiene el cuidado de no exami-

nar los líquidos en un momento demasiado avanzado de la putrefacción.

Micro-organismos en las sustancias fermentescibles sin fermentación.— Como contraste con las experiencias en las cuales se ha encontrado putrefacción sin micro-organismos, se han observado, por otra parte, en substratos susceptibles de descomponerse numerosos micro-organismos sin que la fermentación ó la putrefacción fuesen su consecuencia. Hiller, por ejemplo, ha observado hechos de este género en sus investigaciones sobre la orina; además, en órganos extraídos de animales recién muertos se ha comprobado la presencia de micro-organismos vivos, y sin embargo no había en aquéllos alteración alguna.

Estas objeciones é investigaciones sólo tienen un valor histórico en la actualidad. Datan de una época en que no se sabía nada ó muy poco de los diferentes géneros de micro-organismos, de sus condiciones vitales y de sus muy diferentes acciones específicas. En la actualidad se sabe que no todos los organismos pueden desarrollarse en todos los substratos nutritivos; y, aparte de eso, que el desarrollo de un organismo determinado no debe ir necesariamente acompañado de un desprendimiento de gases odoríferos ni de los síntomas ordinarios de la putrefacción. La existencia de organismos con falta de putrefacción ó de fermentación no tiene por qué extrañarnos y nada prueba contra la teoría vitalista.

Dificultad de asimilación de la albúmina por los micro-organismos.— En diferentes series de ensayos se ha observado que las soluciones de albúmina no se descomponen, ó lo hacen con mucha lentitud, por la siembra de micro-organismos. Estos últimos, por el contrario, forman, como las plantas superiores, su protoplasma con las combinaciones orgánicas más sencillas, y por consiguiente no crecen y se multiplican sino con poca actividad en los tejidos animales vivos; por ejemplo, en los ensayos de cultivo sobre huevos de gallina. De aquí se dedujo que no podían haber contribuido de una manera esencial á la descomposición activa de la albúmina, tal como se observa en la putrefacción (Billroth, Hiller, Hoppe-Seyler, Paschutin, etc.).

Estas observaciones no pudieron menos de asombrar cuando todavía no se había aprendido á conocer y distinguir las diferencias biológicas importantes que existen entre las diferentes especies de hongos. Hace poco sabemos con la mayor certeza que algunos micro-organismos realizan una profunda división de la molécula de albúmina, y con esto provocan la putrefacción. Por otra parte, gran número de hongos inferiores no poseen facultad alguna de esta naturaleza. Por eso, de los ensayos hechos con cualesquiera micro-organismos no debe deducirse la inutilidad de éstos para la putrefacción de la albúmina.

Fermentos químicos.— Más graves objeciones se han promovido, que

han sido objeto de vivas discusiones hasta estos últimos tiempos, y son las emanadas de sabios que han buscado una explicación más *química* de los fenómenos de la fermentación. En la teoría vitalista no hallaban un aclaramiento del hecho que se trata de comprender. Particularmente Liebig y más tarde Hoppe-Seyler tomaron parte en esta oposición. Collin, Billroth, Hiller, Fleck, etc., unieronse á ellos. Mucho tiempo hacia (1839) que Liebig había tratado de explicar la fermentación y la putrefacción por la hipótesis de que debía de existir en los fermentos una sustancia proteica soluble, cuya descomposición provoca la del azúcar. Obraría como numerosos cuerpos químicos conocidos, que, considerados en un estado (simultáneo) de combinación y descomposición, pueden producir en otros cuerpos (con los cuales están en contacto) el mismo estado (variable) de movimiento atómico. Esta descomposición de las sustancias proteicas solubles no es en manera alguna entonces un acto vital de la célula-fermento, sino, por el contrario, un fenómeno correlativo de la muerte. En muchas acciones químicas de este género se advierte la particularidad de que cantidades relativamente mínimas de un cuerpo en vías de descomposición bastan para destruir grandes cantidades de otro cuerpo. A título de ejemplo cita Liebig la descomposición del ácido oxálico, de la oxamida y del agua, en la cual una débil proporción de ácido oxálico basta para grandes cantidades de oxamida. También señala la misma marcha de transformación molecular que se produce en la descomposición del dicianógeno por el aldehído en presencia del agua. El concepto de Liebig permite interpretar la diferencia existente entre la fermentación alcohólica y la putrefacción. En esta última, la continuidad de la descomposición se trasmite por la misma materia putrescible, consistente en albuminato, y que se descompone. De esta manera, una vez comenzada la putrefacción se sostiene aún cuando la causa primera se haya vuelto inactiva. Por el contrario, en la fermentación, el azúcar (sustancia cuya fermentación se considera aquí) no puede transmitir su movimiento; de aquí la necesidad de una causa extraña, de un fermento, no sólo para provocar, sino también para sostener el movimiento.

A pesar de todo, el concepto de Liebig no era más que una pura hipótesis: la existencia de la sustancia proteica en vías de descomposición, que debía ocasionar la fermentación, no estaba en manera alguna demostrada. El único apoyo experimental de esta hipótesis residía en el hecho de que en la fermentación espontánea, que se realiza únicamente á expensas de la sustancia del fermento, sin ayuda de azúcar, se forma una cantidad de alcohol mayor que la correspondiente á la celulosa de las células del fermento. De aquí resulta que la materia necesaria para producirse el alcohol la proporciona otra combinación (más compleja) contenida en las células. A la verdad, esta prueba ana-

lítica demostró más tarde Nägeli que era falsa (*Teoría de la fermentación*. Véase pág. 3 y siguientes). Pero con mucha anterioridad, las numerosas experiencias que manifestaban la dependencia que une el proceso fermentativo á la vida de las células, habían conducido ya á Liebig á modificar notablemente su teoría. En 1870 admitía que la célula del fermento contiene y *produce* la sustancia fermentadora admitida por él antes, y por esta razón, la formación del fermento marcha paralelamente con la vida de las células. El acto mismo de la fermentación estaría basado en un fermento no organizado. La célula de levadura, al dar fermentos, no produciría sino un gran número de otras células que los pueden producir también. Así como el hombre produce fermentos diastásicos (pepsina y tripsina), todos los animales y plantas tienen su fermento. Pero no por eso son idénticos los organismos con estos fermentos, y la fermentación no debe considerarse como producida directamente por la célula. Si se llegan á separar los fermentos de las células, entonces estas últimas no son ya en general necesarias para dar impulso á la fermentación, ni para continuarla. Esta teoría ya se había expuesto en la misma forma en 1858, y más tarde (1876) fué particularmente seguida por Hoppe-Seyler. Por consiguiente, descansa en parte sobre la analogía de los procesos de fermentación y putrefacción con las descomposiciones y divisiones debidas á los fermentos no organizados. Los micro-organismos no debían de ser la causa inmediata primitiva de la descomposición de las materias orgánicas en la fermentación y putrefacción; pero se admitía que primero debían de transformarse las sustancias descomponibles por causas contenidas en las sustancias mismas, por los fermentos químicos solubles. Sólo entonces la sustancia se transforma hasta cierto grado y se verifica una multiplicación de estos organismos, cuyos gérmenes difundidos por doquier deben de llegar necesariamente á estas sustancias. El género, la naturaleza del substrato descomponible y, sobre todo, la naturaleza de las primeras transformaciones que en él se manifiestan, determinan la naturaleza especial de los organismos que en él se desarrollan de preferencia. Los micro-organismo así introducidos participan también en la descomposición de la sustancia, pero no serían absolutamente necesarios para la descomposición ulterior y ésta no caminaría en ningún caso paralelamente á su desarrollo.

Según este concepto, vemos que el papel esencial se atribuye á los fermentos solubles no organizados. En estos últimos tiempos se ha aprendido á conocer un número cada vez mayor de fermentos análogos. Desde entonces parece mucho más admisible la probabilidad de su acción en la fermentación y en la putrefacción. La acción de la diastasa, de la emulsina, de la mirosina, de los fermentos inversivos de la levadura; la acción de la ptialina, de la pepsina, la enérgica

acción descomponente del páncreas y de la tripsina que de éste se aísla, presentaban importantes analogías y los más sólidos apoyos á la teoría química de la fermentación.

Diferencia entre la acción de los fermentos químicos y de los fermentos organizados.— En realidad, los partidarios de la teoría de los gérmenes nunca han negado la acción ni la influencia de los fermentos químicos. Sólo que, por una parte, un análisis más exacto de las descomposiciones debidas á los fermentos químicos, y, por otra parte, el de las transformaciones de la putrefacción y de la fermentación, han conducido necesariamente al convencimiento de que es en absoluto imposible considerar estos dos hechos como enteramente análogos, y que no puede admitirse una causa única para ambos.

Los fermentos químicos no efectúan nada más que divisiones hidrolíticas. Sus efectos son análogos á los de las sustancias llamadas de contacto, por ejemplo, del ácido sulfúrico diluido y de otros diversos agentes; además, la masa del fermento químico permanece la misma ó disminuye durante el acto de la fermentación; la cantidad máxima de efecto se produce hacia los 60°; esta acción no se altera por los venenos fisiológicos. En la fermentación y en la putrefacción, por el contrario, siempre se trata de un cambio mayor en el agrupamiento de los átomos. La masa de los fermentos organizados aumenta proporcionalmente á la intensidad de la fermentación. Su efecto es más activo entre 25 y 40°. Cesa cuando se añaden venenos fisiológicos. Así los fermentos aislables y los micro-organismos de la fermentación se separan claramente los unos de los otros. No subsisten relaciones entre ellos, sino en tanto se considera que en los procesos complicados de fermentación, sobre todo en la putrefacción, ambos agentes son activos con frecuencia. De tal suerte, que los fermentos químicos, en parte producidos por los micro-organismos, comienzan la disociación de los materiales fermentescibles y preparan el terreno para la profunda división que se realizará por influjo de los fermentos específicos organizados.

Pero si quisiera admitirse, finalmente, con Liebig que el cambio de los átomos en la fermentación y en la putrefacción acaece por la intervención de un complejo atómico análogo á los fermentos; que éste no podría ser naturalmente producido sino por micro-organismos vivos y que está directamente ligado con la vida de las células, entonces este concepto no parecería ya como una objeción, sino más bien como una confirmación de la teoría vitalista. Por esta hipótesis no se trata más que de definir mejor el medio por el cual se realiza la división de la sustancia fermentante ó putrefaciente. Al admitir semejantes fermentos, esta teoría no va más allá del nivel de lo especulativo. No puede tratarse de aislar los fermentos de las células de los micro-

organismos, y esto se debe á que precisamente el fermento se aniquila por la muerte y hasta por una perturbación en la vida de la célula.

De las anteriores consideraciones acerca del desarrollo histórico de la teoría de la fermentación y de la putrefacción, resulta que pueden considerarse con certeza los más pequeños organismos vivos como la causa directa de los procesos comprendidos con aquellos dos nombres, y que estos dos modos de descomposición se encuentran en la relación de la más inmediata dependencia con las manifestaciones vitales de estos organismos.

II. — Micro-organismos como agentes de las enfermedades parasitarias.

Mucho antes de que las investigaciones científicas se aplicaran á las enfermedades infecciosas, nació la creencia de que algo dotado de propiedades vitales, un *contagium animatum*, era la causa inmediata de estas mortíferas enfermedades. Esta opinión fué claramente expresada por Hufeland; sin embargo, relacionáronse desde el principio con esta idea inicial toda clase de concepciones fantásticas acerca de la naturaleza íntima y modo de obrar de este contagio animado. Pero bien pronto surgió de esta confusión la idea exacta de que la trasmisión de las enfermedades infecciosas descansa en la colonización é implantación en los individuos de pequeños organismos dotados de vida propia (Kircher, Linneo, Wichmann, etc.). En efecto, existe una relación muy próxima y cierto paralelo entre la aparición de las enfermedades infecciosas y los procesos de la fermentación y de la putrefacción.

La aparición súbita de las epidemias en diferentes sitios aislados, su propagación relativamente lenta, su tenaz persistencia en una localidad, debían excluir la idea de un agente volátil de forma gaseosa. El modo de transmitirse la enfermedad, el desarrollo progresivo ilimitado del principio infeccioso en gran número de individuos, la dispersión parcial de este principio á lo lejos, su adherencia á los objetos más heterogéneos, además el estadio latente de la enfermedad, su marcha cíclica, la inmunidad consecutiva, hacían pensar más ó ménos en agentes organizados como causas de estas afecciones. Todos estos hechos se explicaron con la hipótesis de estos ínfimos seres; el curso de su desarrollo servía para explicar el de la enfermedad. Algunos patólogos habían designado ya la clase de las enfermedades infecciosas con el nombre de *zimbóticas*, lo cual indicaba una tendencia á relacionarlas con los fenómenos de fermentación y de putrefacción.

En realidad, esta manera de ver, que tanto terreno ha conquistado desde hace cuarenta años, no descansaba al principio sino en conoci-