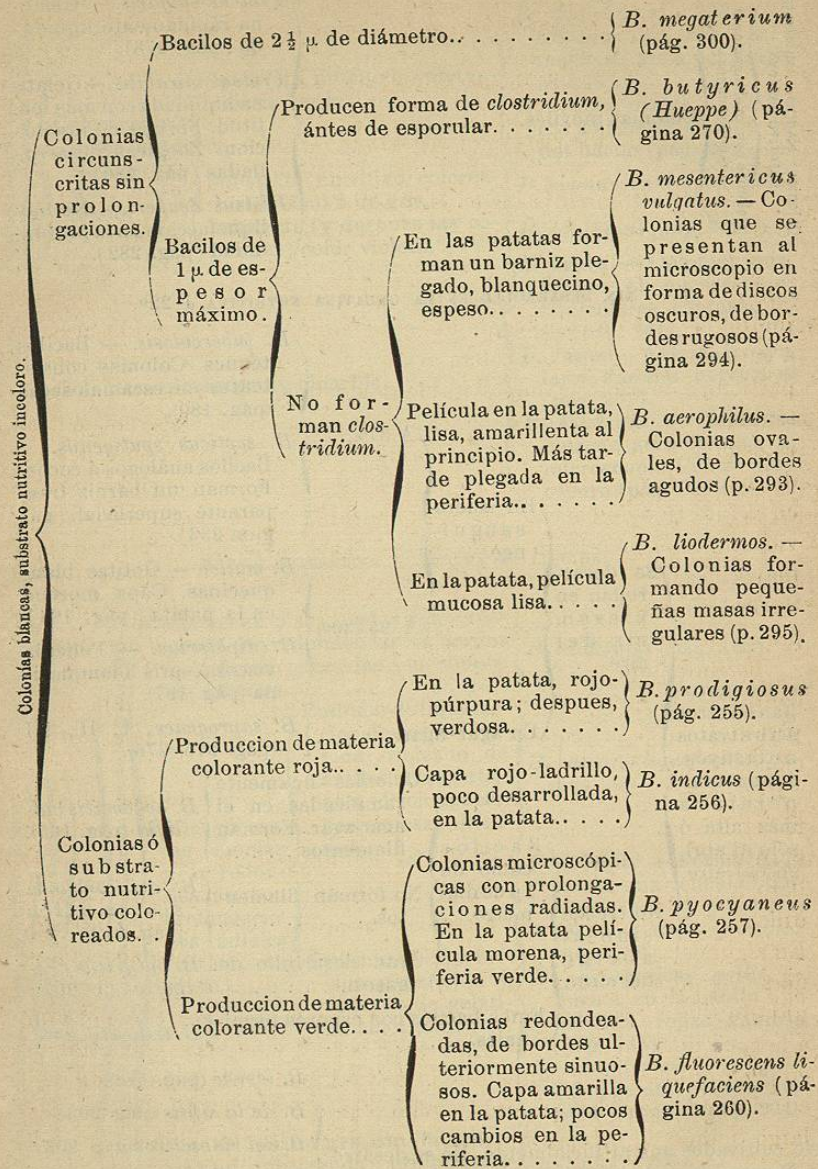


C. — SIN DESARROLLO EN LA GELATINA NUTRITIVA Á 22°. (Conclusion.)



III.—Espirilos.

(Para los caracteres generales del género, véase más arriba.)

SPIRILLUM CHOLERAE ASIATICAE

(BACILLUS VIRGULA CHOLERIGENUS. — KOMMA-BACILLUS)

Las numerosas investigaciones hechas en otro tiempo para encontrar el hongo que se sospechaba ser la causa del cólera, no dieron ningun resultado. Ni aún los micro-organismos encontrados por Pacini (1854) y por Klob (1867) no tienen importancia alguna desde el punto de vista de la etiología de esta afeccion. Sólo en 1884 llegó Koch á encontrar el agente del cólera asiático. Este consistía en una especie particular de bacteria, demostrable de una manera constante en el contenido intestinal y en las deyecciones de los coléricos. No se encuentran estos microbios, ni en el contenido intestinal del hombre sano, ni en el del hombre que sufre otras afecciones. Se encuentran exclusivamente en el intestino de los coléricos y en cantidad tanto mayor cuanto más violento es el proceso morboso. Estas bacterias son muy pequeñas, la mayoría en forma de virgula; á veces constituyen filamentos espirales. Se desarrollan en la gelatina nutritiva, ora en los cultivos en placas, ora en los cultivos por picadura. Liquidan con lentitud la gelatina.

Examinando numerosos casos de cólera, no ha llegado Koch á encontrar en la sangre ó en los órganos una bacteria susceptible de representar un papel en la infeccion, y esto á despecho de las investigaciones más escrupulosas.

Por otra parte, debía esperarse este resultado, puesto que las alteraciones anatomo-patológicas *esenciales* se encuentran únicamente en el intestino, y ninguna, ó en manera alguna esencial, en el hígado, el bazo, los riñones, etc. (Virchow) (1). Koch encontró en el intestino modificaciones proporcionadas á la duracion y á la intensidad del proceso. En algunos casos sobregudos no existía más que una tumefaccion moderada y un color rosado de la mucosa del intestino delgado; el contenido intestinal era incoloro, semejante al agua de arroz, ó mejor aún á la sopa de sémola. En estos casos, los bacilos vírgulas se encontraban en gran número en el contenido intestinal, con frecuencia hasta casi en el estado de cultivos puros. Cuando la afeccion había durado más largo tiempo, la mucosa intestinal era asiento de alteraciones más pro-

(1) *Verhandl. d. Chol.-Conferenz.*, 2 Jahr, 1885.

fundas; podía particularmente comprobarse la existencia de una rubefacción manchada en los folículos cerrados y en las placas de Peyer. Esta rubicundez era sobre todo visible en la periferia de las placas y de los folículos. También se podía demostrar que los bacilos vírgulas habían emigrado hasta el espesor de la mucosa. En los cortes se observaba que habían penetrado en las glándulas tubulosas y que una parte se había deslizado entre el epitelio y la membrana bacilar. Más hacia la superficie se encontraban muchas veces otros gérmenes, por ejemplo, bacilos más ó menos gruesos que habían penetrado en el espesor de la mucosa. Pero á estos últimos acompañaban siempre los bacilos vírgulas, los cuales estaban situados más adentro y parecían haber preparado el camino á las otras bacterias.

En una tercera categoría de casos, la larga duración de la enfermedad había tenido como resultado toda una serie de alteraciones secundarias: la parte inferior del intestino delgado estaba coloreada de rojo moreno oscuro y la mucosa sembrada de hemorragias superficiales, á veces hasta necrosada en la superficie y recubierta por exudaciones diftéricas.

En relación con esto, advertíase que el contenido del intestino no era un líquido incoloro, sino, por el contrario, sanguinolento, sanioso, fétido. En este líquido se hallaban entonces con dificultad los bacilos vírgulas, á causa de la presencia de gran número de especies diferentes. En todos estos casos aconseja Koch para la investigación de los bacilos el método siguiente: se emplean las deyecciones lo más frescas posible, con preferencia las parecidas á sopa de sémola, tomándolas del contenido del íleo en la autopsia ó de las sábanas manchadas por las deyecciones. Koch ha observado que en el lienzo ó en la tierra húmeda se produce al principio una multiplicación activísima de los bacilos vírgulas y que sólo al cabo de dos ó tres días empiezan á pulular las demás bacterias. Por este motivo, pueden servir para demostrar los bacilos vírgulas las camisas y la ropa de cama, aun cuando se hayan conservado durante algún tiempo.

El exámen microscópico se verifica extendiendo sobre un cubre-objetos una gota de deyección ó, con preferencia, uno de los grumos mucosos que flotan de ordinario en ésta (estos últimos contienen bacilos vírgulas en grandísima abundancia). Se deseca entonces la preparación calentándola y se trata durante uno á cinco minutos por el azul de metileno ó por la fuchsina (calentando ligeramente).

A veces es difícil reconocer con certidumbre los bacilos vírgulas en medio de otros gérmenes. Según Schottelius, en tal caso conviene mantener durante doce horas á una temperatura de 30 á 40° la deyección, mezclándola con una cantidad casi doble de jugo de carne ligeramente alcalinizado. Se produce entonces, en particular en la superficie del

líquido, una multiplicación de los bacilos vírgulas. Tomando muestras de la superficie se logran preparaciones que contienen casi exclusivamente estos bacilos. Sólo hubieran podido obtenerse otras semejantes tomando las deyecciones coléricas que presentan el aspecto característico descrito más arriba. Con más dificultad se encuentran los bacilos vírgulas en los cortes del intestino. En los casos sobreagudos no parece producirse inmigración de los bacilos; en los casos menos agudos, los bacilos vírgulas que han penetrado en el intestino han muerto hace mucho tiempo, y á lo más se encuentran bacterias secundarias emigradas en las vías abiertas por los primeros. Se demuestra, sobre todo, la existencia de los bacilos vírgulas en los cortes, cuando el intestino presenta las manchas rojas descritas más arriba. Entonces se encuentran casi constantemente en los cortes al través de los folículos rodeados por un cordoncillo rojo. Se coloran bien, sobre todo por medio de la solución alcalina de azul de metileno. Todavía no se conoce un método de coloración doble que pueda emplearse en este caso, lo cual es tanto más de sentir cuanto que es difícil reconocer estos gérmenes en medio de las células y los núcleos que presentan la misma coloración. Además, claro es que los bacilos rara vez se encuentran en un solo plano, es decir, que presentan excepcionalmente su forma de vírgula. Casi siempre la curva está dirigida hacia arriba á hacia abajo, ó la vírgula es más ó menos vertical. En todos estos casos la forma difiere mucho de los bacilos extendidos en una superficie plana. Por consiguiente, los bacilos aislados no pueden demostrarse de un modo positivo en los tejidos; por el contrario, en las pequeñas masas se encuentran por lo común formas en vírgula bien caracterizadas, merced á las cuales se llegan á reconocer los demás individuos situados menos favorablemente. Dadas las dificultades expuestas más arriba, todavía falta encontrar un método para la segura demostración de los bacilos coléricos en la mucosa intestinal.

Aquí, como en el tífus, el método de los cultivos se muestra, con mucho, superior á la demostración microscópica. Da resultados positivos allí donde series enteras de preparaciones microscópicas no permiten reconocer ningún organismo. Los cultivos se hacen de la manera ordinaria, tomando un grumo mucoso de las deyecciones, ó tela manchada, y colocándolo en un vaso que contenga gelatina líquida al 5 ó 10 por 100. Por medio de ésta se hacen dos diluciones. Se vierte entonces el contenido de estos tres vasos en placas de cristal. Al cabo ya de veinticuatro horas, lo más tarde después de cuarenta y ocho, se obtienen colonias características, con ayuda de las cuales se puede establecer con certidumbre la presencia de los bacilos vírgulas.

Gracias á estos métodos se ha podido demostrar que el bacilo vírgula se observa de una manera constante en todos los casos de cólera

asiático, que se encuentra exclusivamente en esta afección y nunca en el estado normal ó en las demás enfermedades.

Koch ha examinado en Egipto, en la India, en Tolon, las deyecciones y el contenido intestinal de cerca de cien cadáveres de coléricos. Nicati y Rietsch han estudiado 31 casos en Marsella; Pfeiffer 12 casos en París; además han examinado también coléricos, Babès y Watson-Cheyne, en París; Van Ermengem, en Marsella; Armanni y Fede, en Nápoles; Schottelius, en Turin; Ceci, en Génova, y, por último, Klein, Buchner, etc. En todos estos casos se ha logrado demostrar la presencia del bacilo vírgula en las deyecciones ó en el contenido intestinal de los cadáveres. Sólo por las preparaciones microscópicas podíase ya reconocer los bacilos vírgulas en la gran mayoría de los casos. Algunos observadores no comprobaron nunca su ausencia hasta con este modo de exámen.

Sin embargo, el mayor número de ellos señalaba de vez en cuando resultados negativos. Quizá más adelante se reduzca todavía el número de resultados negativos, merced al empleo más general del método de Schottelius. Por otra parte, el método de los cultivos en placa nunca ha dejado dudas á los observadores citados más arriba. En realidad, particularmente en los casos antiguos ó complicados, no se han encontrado los bacilos vírgulas en cada deyección aislada; pero el exámen de varias deyecciones en el curso de la enfermedad ha dado constantemente resultados positivos. Más difícil es demostrar la presencia de los gérmenes característicos en los casos poco graves, como se presentan siempre en tiempo de epidemia colérica en los individuos poco predispuestos.

Puede que aquí sea tan poco importante la cantidad de gérmenes y tan pasajera su presencia en las deyecciones, que no siempre sea posible un diagnóstico positivo. En este sentido hay que fijar aún el límite exacto de lo que puede dar de sí el método.

En los vómitos sólo han encontrado bacilos vírgulas, en cantidad poco considerable, Koch dos veces, Nicati y Rietsch tres veces. Hasta es posible que en estos casos se haya tratado de una penetración del contenido intestinal en el estómago. Además, Nicati y Rietsch han podido encontrar los bacilos del cólera en el conducto colédoco y en la vesícula biliar. La sangre y los demás órganos, aún los ganglios mesentéricos, se han encontrado constantemente libres de bacilos vírgulas.

La demostración del bacilo vírgula está basada naturalmente en un profundo conocimiento de los métodos de Koch. El resultado negativo eventual de la primera experiencia de un observador no es una prueba evidente contra la constancia de la presencia del bacilo vírgula. Así, Emmerich advirtió al principio de sus investigaciones que en dos casos

faltaron los bacilos vírgulas; por el contrario, vió que existían en otros diez y ocho casos.

Sobre estos resultados, en completa armonía con los positivos señalados más arriba, funda Emmerich (1) la proposición principal de su refutación de las ideas de Koch: estos bacilos no se han encontrado de un modo constante en los coléricos. Para confirmar su parecer, aduce de un modo inexacto el testimonio de Schottelius, quien, lo mismo que Koch, no ha demostrado la presencia del bacilo vírgula en todos los casos de cólera. En la misma disertación citada por Emmerich, el autor declara que: «según sus experiencias, el método de los cultivos en placa conduce sin excepción al mismo fin, en los casos en que el exámen microscópico de numerosas preparaciones no haya permitido encontrar con certeza los bacilos vírgulas en las deyecciones» (2).

Para demostrar de un modo cierto en absoluto que la presencia del bacilo vírgula está exclusivamente limitada á los casos de cólera, Koch ha hecho numerosas investigaciones de contraprueba. Nunca pudo hallar bacilos vírgulas en el contenido normal del intestino, ni en los casos de diarreas, ni en los casos de cólera curados.

Las investigaciones, en extremo numerosas, hechas con igual fin por gran número de observadores, han conducido á los mismos resultados negativos. En ninguna parte, salvo en las deyecciones coléricas ó en los objetos contaminados por estas deyecciones (ropa blanca, agua de un *tank*) (3), se ha comprobado ni una sola vez la presencia de los bacilos característicos.

Varias veces se han encontrado bacilos análogos, en forma de vírgula. Al principio, cuando se hicieron estas observaciones, se identificaron estos gérmenes con los bacilos vírgulas de Koch. Pero por un estudio más profundo ha sido posible establecer distinciones esenciales, si no morfológicas, al menos biológicas, entre estas especies y los verdaderos bacilos del cólera. Merced á estas distinciones es posible en la actualidad establecer un diagnóstico preciso. Así ha sucedido con los espirilos encontrados por Finkler y Prior en las deyecciones, por Denecke en el queso y por Lewis y Miller en el sarro dentario (véase más abajo).

Hasta los adversarios de Koch han tenido que convenir en la actual imposibilidad de encontrar los bacilos vírgulas fuera de las deyeccio-

(1) *Arch. f. Hygiene*, t. III, pág. 298.

(2) *Deutsche med. Woch.*, t. XIV, 1885.

(3) En las Indias dase este nombre á estanques próximos á las poblaciones. Su agua sirve para los usos más variados y puede ser un medio de transmisión del bacilo vírgula, según lo ha demostrado Koch.

nes coléricas. Klein hace una confesion análoga, despues de las objeciones de Watson-Cheyne. Buchner dice, en una publicacion reciente (1): «En efecto, la afirmacion de Koch de que el vibrion observado por él es exclusivo del proceso colérico, queda en pié.» Junto á esta apreciacion de Buchner, en la misma entrega de los *Archiv. für Hygiene*, pág. 538, la manera de ver de Emmerich, su colaborador, aparece con un aspecto especial. Este autor dice: «La trasudacion, rica en oxígeno, muy alcalina, lava el intestino y aleja los esquizomicetos que viven allí en gran número. Por otra parte, este contenido constituye una solucion nutritiva notable para los vibriones de Koch, los cuales existen, aunque en número restringido, en el intestino normal.» Ni en sus propias observaciones, ni en las de otros sabios, Emmerich no tiene un punto cualquiera de apoyo con que apuntalar un aserto tan importante desde el punto de vista de la etiología del cólera. Esta afirmacion puede considerarse, pues, sencillamente como inventiva (*Erfindung*).

Está fuera de dudas que los bacilos vírgulas de Koch se encuentran de una manera constante y exclusiva en los casos de cólera asiático. Encuéntranse ademas en un número tanto más grande cuanto más puro y más típico es el cólera. En el mismo intestino abundan, sobre todo en los sitios donde el proceso colérico provoca las alteraciones más profundas, es decir, en la parte inferior del intestino delgado. Esta coincidencia no puede ser efecto del acaso; ambos fenómenos, la marcha del cólera por una parte y la aparicion de los bacilos vírgulas por otra, deben guardar recíproca relacion de causalidad. Para tal relacion sólo hay dos posibilidades: ó el proceso del cólera da por resultado la presencia de una gran cantidad de bacilos vírgulas, ó los bacilos vírgulas ocasionan el proceso del cólera. En la primera hipótesis pudiera explicarse de nuevo de dos modos diferentes la presencia de los bacilos vírgulas: ó estos últimos, por una multiplicacion activa, provienen de algunos bacilos vírgulas que existen normalmente en el intestino, ó, por la influencia del cólera, provienen de otros vibriones contenidos en el intestino. Contra la primera hipótesis se arguyen los resultados constantemente negativos de numerosos exámenes del contenido intestinal.

Ademas, estos bacilos deberían estar extraordinariamente difundidos y existir de un modo constante en el intestino del indio, del egipcio ó del europeo. Por otra parte, sabemos que nunca se ha observado el desarrollo constante y exclusivo de una especie bacterica por efecto de una enfermedad. Es absolutamente inexacto dar la presencia cons-

(1) *Arch. f. Hygiene*. V. 3, 1885, pág. 438.

tante del *oidium lactis* en la leche ácida como un hecho análogo (1), en el cual pudiera deducirse su papel etiológico de la constancia de este germen (que no existe en realidad). En efecto, este ejemplo no responde á la condicion esencial que permitiría hacer la comparacion: lo que sucede en el cólera es la presencia constante y exclusiva del germen en los casos de cólera. En el *oidium lactis* se trata de un hongo en extremo difundido, cuya presencia puede en todas partes demostrarse, hasta fuera de la leche ácida, que se desarrolla sin producir ácido y que, por tanto, es fácil reconocer como independiente por completo de la acidificacion de la leche. Un razonamiento análogo puede aplicarse á los *aspergillus* y á los demas hongos que Buchner ha dado como prueba contra la significacion etiológica del bacilo vírgula.

Muy léjos de esto, no conocemos un ejemplo en toda la criptogamia de la presencia constante y exclusiva de un germen ó de una especie de germen en un proceso cualquiera, sin que no tenga al mismo tiempo una relacion etiológica con él.

Más improbable todavía es la segunda hipótesis, expuesta en las conferencias sobre el cólera, dadas en Berlin, á saber: que el bacilo vírgula de Koch podría provenir, bajo la influencia del cólera, de otros vibriones contenidos normalmente en el intestino. Jamás se ha observado análoga trasformacion de una especie en otra bien caracterizada, que conserve sus propiedades durante años enteros en cultivos frecuentemente modificados, y ménos aún, una trasformacion exclusiva que se reproduzca con regularidad por la accion de un proceso morboso determinado. Una hipótesis semejante, no sólo carece de pruebas, sino que está en directa contradiccion con las nociones que proporcionan la observacion y las experiencias. En el estado actual de nuestros conocimientos no hay más hipótesis lógica sino la de que los bacilos vírgulas de Koch son, en efecto, la causa del proceso colérico. Así como de la presencia exclusiva y constante de los espirilos de la fiebre recurrente, de los bacilos de la lepra, de los bacilos del tífus, etc., deducimos la significacion etiológica de estos gérmenes en las afecciones de que se trata, lo mismo tambien que consideraremos los bacilos de la sífilis como productores de esta enfermedad, si se demuestra de un modo constante y exclusivo su presencia en las producciones sífilíticas, así mismo debemos admitir que los bacilos vírgulas, en virtud de su presencia constante y exclusiva en los casos de cólera asiático, constituyen el agente único y suficiente de esta enfermedad.

Hé aquí lo que hasta ahora se sabe acerca de las propiedades morfológicas y biológicas de los bacilos de Koch.

(1) Buchner. *Münchener ärztl. Int. Bl.*, 1885, núm. 50.

Los bacilos virgulas se presentan casi siempre en forma de bastoncillos cortos, encorvados, que pueden estar unos tras de otros constituyendo largos filamentos espirales. Se puede admitir, pues, que en su forma más sencilla, estos bacilos son fragmentos de espirilos.

La longitud media de los bastoncillos curvos aislados es como de $1\frac{1}{2}\mu$, variando entre $0,8$ y 2μ . El diámetro trasversal corresponde, poco más ó ménos, al tercio ó al sexto del diámetro longitudinal. Los individuos jóvenes son poco curvos ó hasta rectos en absoluto. Los individuos adultos están claramente encorvados en las preparaciones frescas, incoloras, ya formando un arco de radio muy grande, ya constituyendo un semicírculo muy bien diseñado. En las preparaciones coloreadas, un mayor número de individuos no presentan sino un débil grado de curvatura ó hasta son absolutamente planos. Con frecuencia, después de la división, dos individuos permanecen adheridos el uno al otro, y forman, según la edad, elementos rectos, largos, ó curvos en forma de S. Cuando se examinan los cultivos hechos en una gota de caldo esterilizado puesta en la cara inferior de un cubre-objetos, se ve que las dos partes de la S no están en un mismo plano, sino formando una espiral. En las preparaciones se observan con frecuencia formas en ϵ ; probablemente, se ha producido en mitad del elemento una ruptura en virtud de la cual ambos fragmentos, primitivamente colocados en sentido opuesto, se encuentran luego en la misma dirección.

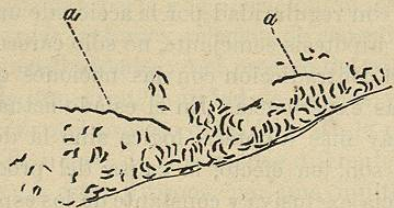


FIGURA 128 (según Koch).

Preparación en cubre-objetos. — Borde de un cultivo en gotita. Cultivo puro de *bacilos virgulas*, conteniendo largos filamentos espirales (600/1).

También se observa casi siempre en los cultivos en gotitas la formación de largos filamentos contorneados, verdaderos espirilos, que pueden componerse de diez, veinte, treinta pequeñas circunvoluciones. Sólo en los cultivos mantenidos a una temperatura moderada se observa la adherencia permanente de los individuos recién formados, a los que deben su formación los espirilos. Es raro, relativamente, encontrarlos en las preparaciones coloreadas en cubre objetos. Casi siempre están

borradas las espiras, de modo que los filamentos son casi rectilíneos, ó bien se rompen éstos y sólo se observan elementos cortos.

Por lo que antecede vemos que las relaciones morfológicas de los bacilos virgulas pueden, sobre todo, estudiarse bien en los cultivos en gotitas. Se hacen poniendo una gota de caldo esterilizado y neutro (véase el capítulo de los métodos) en un cubre-objetos; se introduce en ésta una infima cantidad de un cultivo puro; en seguida, con la gota hacia abajo, se fija el cubre-objetos con vaselina sobre un porta-objetos que presenta una excavación cóncava; mántiense entonces éste a

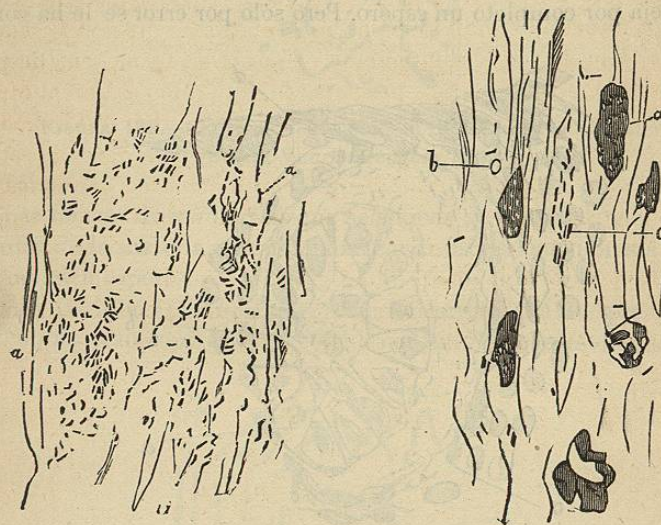


FIGURA 129.

Preparación en cubre-objetos. Deyecciones coléricas en lienzo húmedo (al cabo de dos días). Multiplicación de los *bacilos virgulas*, algunos de los cuales tienen una forma en S (600/1).

FIGURA 130 (según Koch).

Preparación en cubre-objetos del contenido intestinal de un individuo muerto por el cólera. — *a*. Núcleo de epitelio degenerado. — *b*. *Bacilos virgulas* en semicírculo. — *c*. Agrupamiento característico de *bacilos virgulas*.

una temperatura de unos 25 a 30° ; de tiempo en tiempo se estudia por medio de un fuerte aumento (inmersión homogénea) el desarrollo sucesivo de los espirilos. Con ayuda de este procedimiento puede comprobarse que los bacilos virgulas cambian de lugar. La mayoría de las veces los movimientos son muy vivos y consisten en un giro y una progresión hacia adelante.

Los largos espirilos tienen un movimiento más lento, más oscila-

torio. En el borde de la gota de cultivo, junto al espacio lleno de aire, es más vivo siempre el movimiento de los bacilos.

Los bacilos virgulas se multiplican con rapidez.

Cuando en un cultivo en gotita llega la multiplicación a su máximo se ven formarse entonces formas de involución, primero en individuos aislados, después en un número mayor. Los bacilos que envejecen pierden sus formas características, se retraen ó se dilatan y no absorben la materia colorante sino en débil cantidad, ó nada. Con frecuencia la distribución del plasma coloreable en el bacilo dilatado, informe, es tal que en el centro queda un espacio claro, sin colorear, que semeja por completo un esporo. Pero sólo por error se le ha consi-

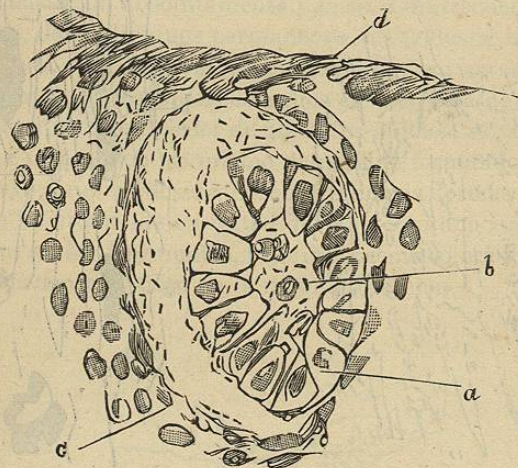


FIGURA 131 (segun Koch).

Corte de la mucosa intestinal de un colérico. — *a*. Glándula tubulosa (corte oblicuo): vense gran número de bacilos entre las células y la membrana basilar.

derado como tal. Segun Babès, en los medios de cultivo que contienen alcohol nacen espirilos particularmente largos, en cuyos extremos se forman grandes vesículas redondeadas que por fin se separan. Estas permanecen mucho tiempo aún visibles, al paso que el filamento que les ha dado origen se destruye con rapidez. Estas producciones particulares, lo mismo que las en forma de huso ó de botella, son productos de involución estériles en absoluto.

Hasta aquí no se ha observado que se reproduzcan los bacilos por esporos duraderos. Por otra parte, ciertas observaciones de Koch dependen contra toda idea de formación de esporos. En efecto, este autor

ha notado que las deyecciones coléricas, el lienzo y la tierra impregnados de cultivos de cólera, etc., no contienen ya bacilos virgulas vivos cuando se han desecado durante algún tiempo.



FIGURA 132. — Formas de involución de los bacilos del cólera. (Segun Van Ermengem.) 700/1.

Las formas de involución que acabamos de describir, y el desigual reparto de la materia colorante, han conducido a los autores a admitir que existen esporos.

Así, Carillon (1) y Ferran (2) han admitido que las producciones globulosas eran esporos. Ceci (3) ha confundido con estos últimos las

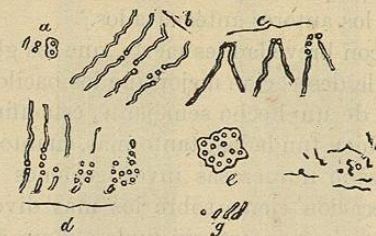


FIGURA 133. — Formas duraderas del bacilo del cólera. (Segun Hueppe.)

a. División de un bacilo en dos glóbulos. — *b, c*. Transformación de los glóbulos en espirilos. — *d, e*. Focos de glóbulos. — *f*. Espirilos y glóbulos procedentes de cultivos viejos. — *g*. Germinación de los glóbulos.

partes no coloreadas de los elementos degenerados. Ferran hasta pretende haber observado que los bacilos virgulas presentaban el ciclo de desarrollo de un mohó (*peronospora*).

- (1) *Semaine Médicale*, 1884. Noviembre.
- (2) *Gaceta Médica Catalana*, 1883. Enero.
- (3) *Semaine Médicale*, 1885. Marzo.