

NOTA SOBRE MORFOLOGIA
DEL BACILO DE LA TUBERCULOSIS
EN LOS ESPUTOS

(FORMAS QUE TOMAN LA FUCHINA FENICADA
Y SON ÁCIDO-RESISTENTES) (1)

por

R. DARGALLO

Valiéndome del método de la fuchina fenicada, precedido de fijación por el ácido crómico al 5 por 100 y limitando el tiempo de la coloración a un minuto, en caliente — según fué empleado por Moeller para la tinción de los

(1) Hago constar esto, para que se entienda que me refiero a las formas de b. tuberculoso que corrientemente se tiñen con el método de Ziehl-Neelsen. Al mismo tiempo debo hacer notar que, si bien en las presentes observaciones he empleado el método de Moeller en lugar del de Ziehl-Neelsen, por haberme dado resultados más correctos con respecto a la morfología íntima del b. de K., sin embargo, cuando se tiñe según el método ordinario, durante menos tiempo (se acostumbra a dejar que obre la fuchina al calor de 5 a 10 minutos) y cuando se decolora bien, los resultados son bastante aceptables. Por consiguiente, estas formas obtenidas por el procedimiento de Moeller en nada se diferencian de las que se presentan con el Ziehl-Neelsen.

esporos de las bacterias (1) — he experimentado en la expectoración de los tuberculosos pulmonares y me ha parecido que se podría sacar provecho de la morfología del bacilo de Koch con respecto al pronóstico y, consiguientemente, al tratamiento.

Si consideramos que las reacciones citológicas y humorales, espontáneas o provocadas, tienden a la anulación del agente infectivo, es decir, a la bacteriolisis, no extrañará que por el estudio de la morfología íntima del bacilo de la tuberculosis se aspire a conocer en qué estado se encuentran aquellas defensas orgánicas en un caso concreto.

Este asunto lo estoy estudiando actualmente y los resultados que he obtenido me animan a seguir adelante, pero mi experiencia no es suficiente todavía; por eso no lo expondré en todos sus detalles y sólo me permitiré hablar de las formas bacilares que toman la fuchina fenicada y son ácido-resistentes y su posible relación, todo lo cual sirve de base a mis actuales investigaciones.

Sin teorizar demasiado prematuramente y limitándome a los hechos de observación, creo tener como bien determinado lo siguiente.

Se puede considerar origen de todas las formas bacilares citadas una forma corta y homogénea que, con el procedimiento empleado, se colorea intensamente. Esta forma

(1) He aquí cómo opero: 1.º Extensión en capa bastante delgada de una partícula de esputo y desecación cuidadosa, pasando varias veces el portaobjetos sobre una llama. 2.º Fijación por el ác. crómico al 5 por 100 durante 3-5 minutos, seguida de lavado abundante en agua *hasta quitar todo el ác. crómico*. 3.º Coloración con la fuchina fenicada de Ziehl, en caliente, y con desprendimiento ligero de vapores durante 1 minuto. 4.º Lavado con agua para arrastrar una buena parte de la fuchina, con lo que se facilita la decoloración. Decoloración por un ácido — ác. nítrico al tercio, o ác. sulfúrico al 5 por 100, por ejemplo — unos 30 segundos. Decoloración *completa* con alcohol, y 5.º, nuevo lavado con agua abundante y recoloración con azul de metileno al 1 por 100 durante 2-3 minutos. Secar.

es, además, la más activa: el tuberculoso que la presenta en abundancia se defiende mal, sea a causa de ser sorprendido de pronto, sea porque en el curso de su enfermedad, la defensa contra el agente claudica.

Una segunda forma bien individualizada es la forma larga y estriada (1); el bacilo en este caso se presenta de grandes dimensiones longitudinales y con partes cromófilas alternando con partes acromáticas que mantienen a las primeras equidistantes. Esta forma está perfectamente deslindada de la anterior, pero no se pasa de la una a la otra sin formas intermedias.

Existen formas cortas y estriadas (fig. 1.^a, 2) y formas largas y homogéneas (fig. 1.^a, 3).

Según ésto, a partir de la forma homogénea corta pueden suceder dos cosas: o bien la forma corta se vuelve estriada desde luego — forma corta y estriada — o bien, continuando homogénea, se hace larga — forma larga y homogénea — para estriarse después y convertirse en la segunda forma tipo citada, es decir, en la forma larga y estriada (2).

Alcanzado este estadio, el bacilo tiende a pasar a una tercera forma, si a ello le obligan las defensas orgánicas: forma con cuerpo de resistencia (fig. 3.^a, 1).

(1) Según lo que he leído en M. Deguy y A. Guillaumin, *Microscopie Clinique*, París, 1906, y en F. Bezançon y S. I. de Jong, *Traité de l'examen des Crachats*, París, 1912, esta forma corresponde a la variedad moniliforme larga de Piery y Mandoul, quienes admiten: a) bacilos homogéneos largos y cortos; b) bacilos moniliformes largos y cortos; c) bacilos para-moniliformes (forma con corpúsculos de resistencia).

(2) Estas transformaciones me parecen ciertas en la clínica, observando el individuo enfermo, y en el laboratorio, abandonando esputos en la estufa a 37°, dentro de cajas de Petri. Últimamente he repetido el experimento a la temperatura del laboratorio (alrededor de 15°), con los esputos de un enfermo en el que había encontrado 35 por 100 de b. homogéneos y 25 por 100 de b. cortos: a los 12 días no pude hallar ningún bacilo homogéneo y eran raros los bacilos cortos.

Cuando el enfermo continúa en el mismo grado de defensa que originó la forma larga estriada no se produce la forma con corpúsculo o cuerpo de resistencia. Es menester para esto que aumente la energía de la reacción; de otro modo, el bacilo permanece largo y estriado con la sola particularidad de alargarse considerablemente, disminuyendo, quizás, un tanto su espesor y colorabilidad.

La existencia o no existencia de esporos en el bacilo de la tuberculosis es defendida por unos y discutida por otros, desde Koch (1). En este lugar, sin embargo de hallarme modestamente con los que la admiten, rehuyo consignar los gránulos de esta tercera forma bacilar con el nombre de esporos y me contento con la denominación de cuerpos o corpúsculos de resistencia, que les han dado otros autores y que no prejuzga nada.

Las formas que presentan tales gránulos se caracterizan por lo que sigue: el bacilo presenta en uno o varios puntos de su cuerpo, una, dos, tres o más granulaciones bien definidas, a veces de distinto volumen, redondeadas, rojo-negras, que cuando se desenfocan presentan un punto central claro: el cuerpo bacilar, por su parte, está teñido pálidamente y su diámetro transversal ha disminuído (2).

(1) Babés (Cornil y Babés, *Les Bactéries*, 3.^a ed., tomo II, 1890) ha estudiado los b. de K. de cultivos viejos, dejando las preparaciones algunos días bajo la acción de la solución de fuchina, después de lo cual los decoloraba fuertemente con el sulfuro de sodio y recoloraba de nuevo intensamente por el azul de metileno. Por este procedimiento ha visto ciertos corpúsculos del bacilo permanecer rojos, mientras que los cuerpos bacilares se presentaban en azul o en rosa pálido; los corpúsculos eran redondos y ordinariamente terminales, y cada bacilo poseía uno. Ehrlich ha comprobado los mismos corpúsculos y no vacila en afirmar que son esporos. Cornil y Babés han examinado con la misma técnica muchas variedades de bacilos con esporos de diferentes enfermedades, y, como anteriormente, han comprobado bacilos azules con corpúsculos rojos. Según ellos, o estos corpúsculos son esporos o las reacciones indicadas por Bienstock, Neisser, Hueppe, etc., no serían concluyentes ni permitirían diagnosticarlos.

(2) Corresponde a la forma paramoniliforme de Piery y Mandoul.

Es que, después de la aparición de los corpúsculos de resistencia, el cuerpo bacilar se atrofia, tendiendo a desaparecer; tanto, que sólo en ciertos casos continúa viéndose la estriación y aun poco distintamente (fig. 3.^a, 2).

Esta es una tercera forma definida, pero tampoco se llega a ella sin formas intermedias.

Parece que el bacilo se hace estriado precisamente en vista de la producción de corpúsculos de resistencia y que cada una de las estriaciones cromófilas tiene derecho a un corpúsculo de resistencia; pero es de admitir que muchas de las estriaciones abortan, lo cual explica que los corpúsculos aparezcan en contado número — de uno a tres, comúnmente.

Las estriaciones que tal hacen pierden de su espesor, se tiñen menos y al final apenas tienen individualidad, porque se han atrofiado. Contrariamente, las estriaciones cromófilas que se han de convertir en corpúsculo experimentan un ligero aumento de espesor, se redondean y toman la fuchina más intensamente que las ordinarias estriaciones — aunque sin llegar al negro intenso del cuerpo de resistencia.

Por tanto, un bacilo estriado en vías de hacerse con corpúsculo, tiene sus estriaciones desigualmente coloreadas y de volumen desigual (fig. 2.^a, 2) destacando así, una, dos, tres o más que se definen por los caracteres mencionados.

Pero tampoco todas las estriaciones de este modo diferenciadas acaban en corpúsculo: algunas a su vez abortan. Esto debe de ser así porque, aunque he podido hallarme en presencia de bacilos con todas sus estriaciones en vías de formación granular, esto es, presentando un aspecto marcadamente estreptocócico con 7-8 gránulos p. e. (fig. 2.^a, 3), nunca he visto bacilos con 7-8 cor-

púsculos de resistencia, uno a continuación de otro sin ninguna estriación intermedia abortada (1).

Una vez constituída la forma de resistencia y, atrofiado el cuerpo bacilar, éste acaba por aniquilarse y el corpúsculo tiende a quedar libre.

Una nueva forma se presenta entonces: la de corpúsculo de resistencia libre (fig. 3.^a, 4 y 5), el cual seguramente saldrá del organismo en que se ha visto obligado a formarse e irá a colonizar en otro organismo, donde, si encuentra condiciones de medio, volverá a empezar el ciclo.

Pero la puesta en libertad del corpúsculo debe de efectuarse pocas veces en el mismo enfermo, pues antes de que tenga lugar se expulsa con el esputo y es en éste donde se efectuará, fuera ya del organismo. Por esto, cuando se efectúa la observación — como yo lo he hecho en el curso de mis trabajos — dentro de las dos horas siguientes a la expulsión del esputo, la forma de corpúsculo de resistencia libre es rara. Además, está sujeta a causas de error por la razón de que la fuchina de Ziehl no le da su color rojo brillante característico, sino el rojo-negro y, en este caso, cualquier punto negro, de los que nunca faltan en el esputo, puede originar la confusión.

Así, sólo podrá considerarse real la existencia de corpúsculo libre, cuando la forma de bacilo con corpúsculo se halle en el esputo — sobre todo cuando sea abundante — y cuando el supuesto corpúsculo reúna los mismos caracteres que presentan los que aun mantienen relación con el cuerpo bacilar, que son: ser redondeado, teñirse en rojo-negro y presentar un punto claro central al ser desenfocado.

(1) El paso desde la forma estriada a la forma con corpúsculos no lo he estudiado fuera del enfermo, pero en vista de la sucesión de las formas intermedias no me parece dudoso.

La serie de formas-tipo expuestas: corta homogénea, larga estriada, corpuscular y de corpúsculo de resistencia libre, junto con las formas intermediarias correspondientes, constituye una sucesión de formas que me parece muy natural, pero no representa el conjunto de formas bacilares que se hallan en el esputo. Existen todavía otras dos, típicas también, relacionadas entre sí que significan una evolución particular, distinta de la descrita y que se origina también a partir de la forma corta homogénea o forma primordial. Son la forma segmentada y la forma irregular.

No es lo mismo forma segmentada que forma estriada. Esta última es la de un bacilo que se divide regularmente en vista de la formación de corpúsculos; en ella las divisiones son de dimensión igual y están separadas de manera equidistante por zonas acromáticas también iguales o casi iguales entre sí. En cambio, la forma segmentada (fig. 4.^a, 2) se caracteriza por la desigualdad de partes cromófilas y de partes acromáticas: el bacilo se ha roto, por decirlo así, en varios pedazos de dimensiones diferentes, los cuales se hallan separados también de manera desigual.

Tal forma segmentada o quebrada, como también podría llamarse, tiene su origen, como he dicho, en la corta y homogénea, pero pasando por el intermedio de una forma homogénea larga que finalmente se rompe. En este caso ocurre lo mismo que durante el tránsito hacia la forma larga y estriada, es decir, el bacilo corto y homogéneo se hace largo y homogéneo, pero, contrariamente, al dividirse lo verifica de un modo desigual.

De la forma segmentada a la irregular no hay más que un paso y sin formas intermediarias individualizables.

Después de roto el bacilo en trozos desiguales, cada uno

de éstos tiende a desaparecer y al hacerlo sufre un arrugamiento y una tan desigual mengua en sus dimensiones, que el bacilo, sin embargo de permanecer bastante intensamente teñido, tiene un aspecto irregular y toma formas difícilmente prefijables (1) (fig. 4.^a, 3).

Esta irregularidad hace advertir que se esté prevenido contra las causas de error, por ejemplo: contra los cristales de ácidos grasos o de anilina que a veces se presentan en las preparaciones y que un examen poco cuidadoso podría hacerlos confundir con los bacilos irregulares. Sin embargo, tales formas cristalinas tienen un aspecto particular para un ojo ejercitado.

Esta segunda serie evolutiva, bacilo corto homogéneo, bacilo segmentado y bacilo irregular, significa un aniquilamiento rápido del bacilo que no permite la formación de corpúsculos de resistencia: el organismo lucha vigorosamente contra la bacteria.

No he tenido ocasión de seguir un caso bien evidente en que esta segunda serie se produjera con exclusión de la otra en primer lugar descrita y creo que los casos mixtos son más conformes con la realidad cuando se encuentran formas de esta segunda serie. Entonces cada bacilo homogéneo corto puede evolucionar en uno de estos dos sentidos: o hacia el corpúsculo de resistencia — sin que esto quiera decir que deberá hallarse éste fatalmente — o hacia la forma irregular.

Aun queda una última forma intermedia entre las dos series, es la forma estriada y segmentada (fig. 2.^a, 4), cuya significación es mixta: probablemente el bacilo, primero

(1) ¿Corresponderían aquí los «Splitter» de Spengler? — Es posible que Wurtz (*Précis de Bactériologie clinique*: 2.^a ed. 1897), se refiera a las formas irregulares cuando dice que a veces el bacilo de Koch presenta la forma de espirilo o de espiroqueta. — Darder las dibuja en un trabajo que más adelante cito.

estriado, se hace segmentado después. Esta forma es menos importante (1).

Las formas que llevo descritas me parecen individualizables con respecto al pronóstico en las tuberculosis pulmonares, asunto que, como dije al principio, estoy estudiando actualmente, tratando de relacionar aquellas formas con la manera de reaccionar de cada enfermo y con la forma de su tuberculosis, que a su vez depende — me atrevo a decir — puramente de la manera de defenderse.

No lo es todo el bacilo en la tuberculosis: el papel que juega el individuo de cada vez se hace más importante.

Creo que esta idea de relacionar la forma bacilar con el factor individuo enfermo es más correcta que la de relacionarla con el factor forma de tuberculosis pulmonar y período en que la misma se encuentra (2), sobre todo pen-

(1) Tomo del libro citado de F. Bezançon y S. I. de Jong lo siguiente que se dice en él, a propósito de los trabajos de Piery y Mandoul: «Uno de nosotros ha comprobado estos aspectos en colaboración con M. P. Weil, y considera que los bacilos son mucho más polimorfos y responden a los tipos siguientes: a) el b. tuberculoso puede aparecer homogéneo, es decir, regularmente teñido; b) el b. con todo y no parecer granuloso, está más o menos coloreado según los puntos, está irregularmente teñido (¿forma segmentada?); c) en un cuerpo bacilar en que se percibe netamente la limitación se ve una alt mancia de zonas claras y coloreadas, forma segmentada (mejor estriada); d) en otros casos, correspondiendo al b. paramoniliforme de Piery y Mandoul, se ve en el interior de una substancia ligeramente teñida que dibuja el contorno del bacilo gruesos granos intensamente coloreados; e) las granulaciones están dispuestas en rosario, sin estar rodeadas de ninguna envoltura. — Las granulaciones son de volumen desigual en un mismo bacilo. Unas veces son redondeadas, otras alargadas. Su contorno unas veces es regularmente redondeado, otras irregular; su número es variable según la longitud del cuerpo bacilar. Unas veces se encuentran solamente dos granulaciones polares, otras una mediana y dos polares, otras 4-6 granulaciones. Ciertas granulaciones aparecen más grandes que las otras, de contorno más refringente, son de color rojo negruzco o negruzco por la fuchina, y recuerdan hasta un cierto punto los corpúsculos metacromáticos.»

(2) Así lo han hecho Piery y Mandoul. — Ortal y Chauvin confirman en sus grandes líneas sus ideas. — En los trabajos citados por F. Bezançon y S. I. de Jong con M. P. Weil no pudieron comprobar esta relación.

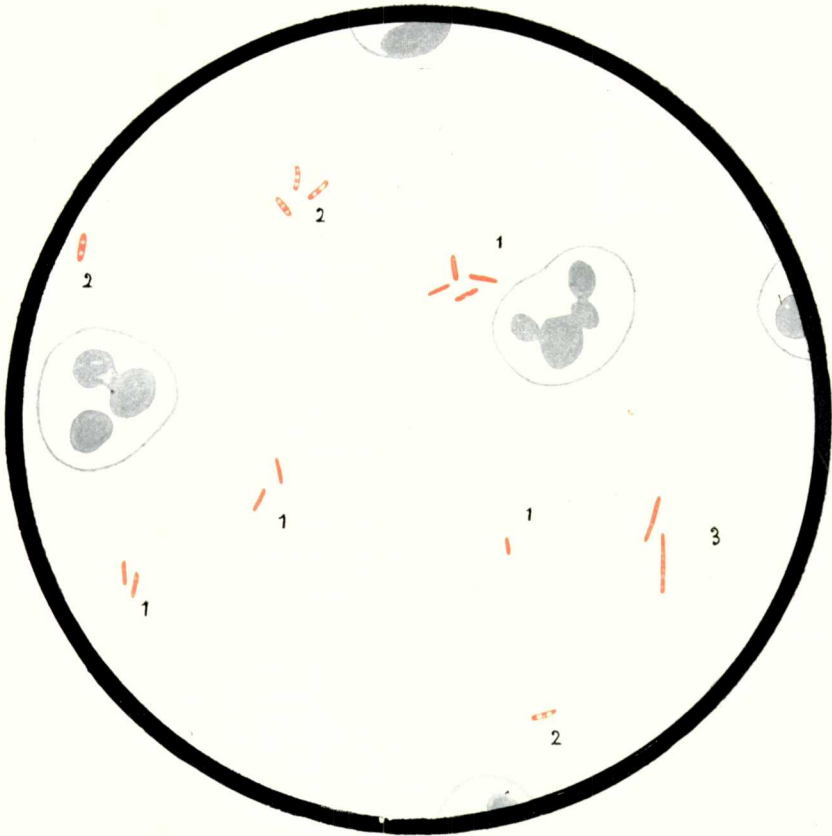


Figura 1.^a (semiesquemática).

1 b. cortos homogéneos. — 2 b. cortos estriados. — 3 b. largos homogéneos.

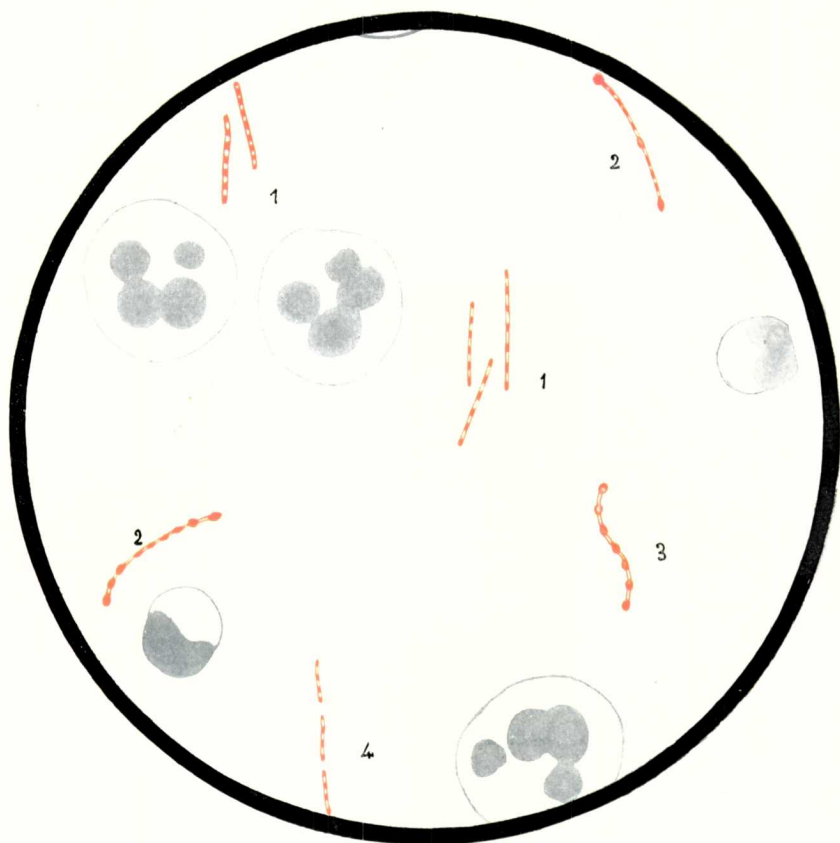


Figura 2.^a (semiesquemática).

1 b. largos estriados. — 2 b. estriados en vías de formación corpuscular.
3 forma estreptocócica. — 4 forma estriada y segmentada.

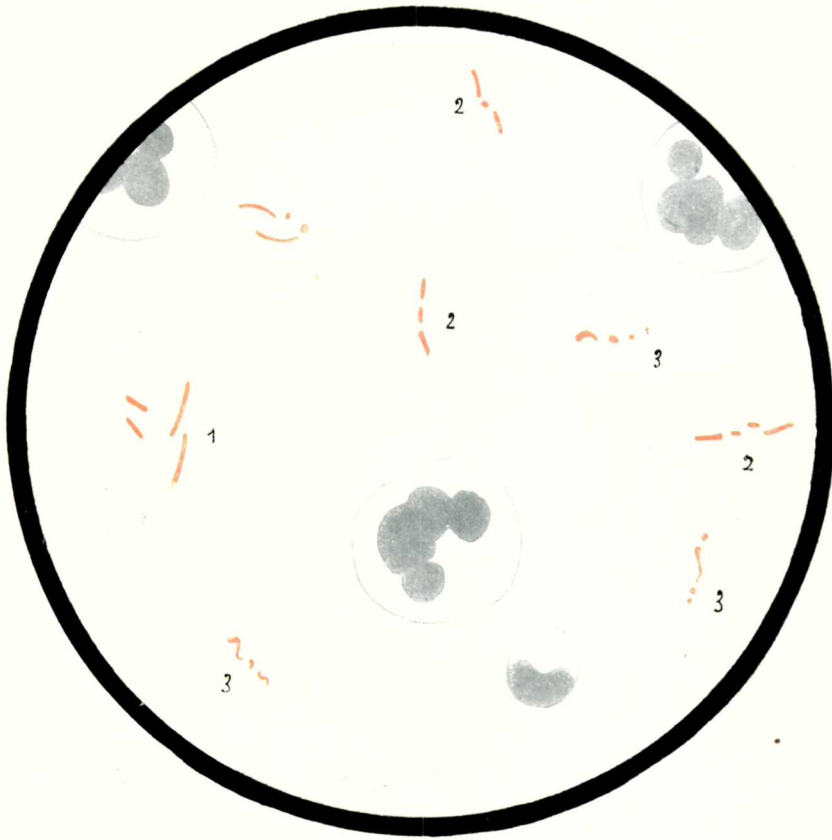
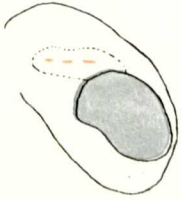


Figura 4.^a (semiesquemática).

1 b. cortos y largos homogéneos. — 2 b. segmentados. — 3 b. irregulares.



Obs. Fig. 3.



Obs. Fig. 23.



Obs. Fig. 24.



Obs. Fig. 25.

Fig. 5.

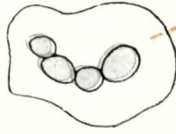
(Tomada de Darder.)



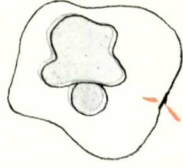
Obs. Fig. 18.



Obs. Fig. 19.



Obs. Fig. 27.



Obs. Fig. 28.



Obs. Fig. 29.

Fig. 6.

(Tomada de Darder.)

sando que de esta manera lo que se considera no es la defensa del organismo, sino el estado anatómico del pulmón, y en este caso la idea de establecer un pronóstico sufre menoscabo: porque como los focos en evolución pueden ser varios y el período en que se encuentren distinto, la mezcla de bacilos de diferentes focos — si esto es posible — puede dar resultados casualmente desiguales; tanto más si se considera que, para hacer el análisis, se toma una partícula de esputo que de ningún modo es proporcional a la masa total del o de los esputos y mucho menos a una relación numérica de las diferentes formas bacilares.

Pero he de repetir aquí que no quiero juzgar prematuramente y por eso dejo la discusión teórica de los hechos recogidos y siento sólo lo que me parece cierto, con vistas a explicarlo en el sentido apuntado, quedando siempre dispuesto a modificarlo si los hechos lo exigen.

Para ser completo me falta consignar aquí las formas de bacilo de Koch *exclusivamente* en relación con la fagocitosis, cuyo asunto he emprendido recientemente estimulado por un trabajo de Darder Rodés (1), mas como mi experiencia es muy corta, de él tomo las siguientes formas sin comentarlas:

1.^a La forma de Löwenstein, que se caracteriza por la presencia de un bacilo en una parte del protoplasma no teñida e irregularmente limitada (fig. 5.^a, obs. fig. 3).

2.^a La forma con cápsula fuchinófila de Darder, que, según él, es una forma que parece de resistencia, la cual adoptan a veces los bacilos encerrándose en cápsulas que se teñirían por la fuchina. En estos casos, los ejemplares de las cápsulas se tiñen en rojo intenso y, en cambio, las

(1) J. Darder Rodés: «Contribució a l'estudi de l'immunitat dita opsònica» (*Arxius de l'Institut de Ciències*, n.º 3, 1912). «Die Phagozitose der Tuberkelbazillen im Sputum» (*Beitr. z. Klinik. der Tuberkulose*, Bb. XXVII, H. I, 1913).

porciones que de los mismos salen de la cápsula y, por lo tanto, no están protegidas, sufren metamorfosis degenerativas (fig. 5.^a obs. figs. 23, 24 y 25).

3.^a Otra forma observada también por Darder en la cual la fagocitosis sólo obra sobre una parte de bacilo que está incluida en el protoplasma leucocitario, la cual es diversamente actuada en relación con la fagocitosis, mientras que la porción que está fuera de la acción protoplasmática parece no sufrir modificación en unos casos (fig. 6.^a, obs. fig. 27, 28 y 29) o bien, en otros, reacciona creando un corpúsculo, como tratando de defenderse (fig. 6.^a, obs. figs. 18 y 19).

Asimismo me contento con citar las formas gigantes del bacilo tuberculoso halladas por primera vez en los cultivos por Metchnikoff y en seguida (en el mismo año 1888) por Nocard y Roux—formas alargadas, ramificadas, frecuentemente terminadas en forma de porra—que fueron encontradas luego en los esputos por Czapplewsky y Coopen Jones, raras y que no sé exactamente qué significación puedan tener.

Finalmente, dejo aparte también los corpúsculos de Much que no corresponden a este estudio aunque me parecen muy relacionados con las formas descritas en primer lugar en ese trabajo, y los cuales no hago más que mencionar esperando ocuparme de ellos con cierta extensión en cuanto me sea posible. Junto con ellos hablaré de los corpúsculos de Betegh, cianófilos, iodófilos, eritrófilos, etc., que aun he de estudiar, reservándome por ahora el concepto que me merecen.

Y termino dando las gracias al Dr. Vallejo Lobón, director del servicio a que estoy adscrito, por las facilidades y valiosos consejos de él recibidos en el curso de mis trabajos.

Laboratori de Clínica Mèdica, Facultat de Medecina.

Discussió:

SR. DARDER RODÉS. — Molt poca conformitat mostren els autors respecte la significació de la morfologia del bacil tuberculós en els esputs.

Estic plenament convençut que les modificacions morfològiques són la traducció clara i fidel del procés defensiu del malalt.

En els meus estudis sobre la fagocitosi del bacil de Koch en l'expectoració (1), vaig dedicar una part del treball a la observació de les modificacions que experimenten el bacil i l'element cel·lular en la fagocitosi.

Per tant, la meua atenció es dirigia quasi exclusivament als bacils fagocitats, mentres que l'amic Dargallo s'ha ficat quasi exclusivament en els no fagocitats i, no obstant, el mateix ell que jo hem observat semblants modificacions morfològiques.

I es comprèn que sigui així.

El tubèrcul, en els primers estadis del seu desenrotllament impressiona ben poc als processos defensius específics. En la fase de degeneració, el tubèrcul presenta la regressió caseosa característica, fent-se les relacions amb l'organisme molt més íntimes. Per això, els fagocits que integren la fase de leucocitosi polinucliar secundaria de Kostenitch i Wolkow, ordinàriament se troben en condicions d'atacar i d'apoderar-se dels bacils tuberculosos. ¿Aquesta fagocitosis qué indica? La intervenció opsònica. ¿I aquesta prova? Senzillament, l'intervenció de la immunitat lítica,

(1) Publicats a:

Arxius de l'Institut de Ciències. Any I, n.º 3.

Brauer's Beiträge zur Klinik der Tuberkulose. B. XXVII, H. I.

Reichs-Medizinal-Anzeiger. 10 octubre 1913.

Actualment s'estàn publicant en

La Clínica Moderna, de Saragoça.

ja que avui dia és ben coneguda i ben fundada la tendència d'identificar la forma opsònica de la immunitat amb la bacteriolítica.

Ara bé, com que les lisines són els anticossos que ataquen les bacteries fòra de les cèl·lules (amb el complement extracel·lular) o dintre de les mateixes (amb el complement intracel·lular), res té d'estrany que lo mateix en Dargallo que jo haguem observat les mateixes modificacions morfològiques, ell en els baccils extracel·lulars i jo en els endocel·lulars.

La fagocitosi — com indiquen algunes de les figures observades per mi i citades per l'amic Dargallo — sembla ésser devegades com un procediment més perfeccionat, ja que en dites figures la modificació estructural la presenten els baccils parcialment fagocitats en la porció endocel·lular.

Jo crec que l'estudi detingut de la morfologia del baccil de Koch en els esputs pot ser un element de pronòstic de gran valúa i per això incito a l'amic Dargallo a seguir aquestes curioses observacions que'l portaràn, sens dubte, a conclusions molt profitoses.