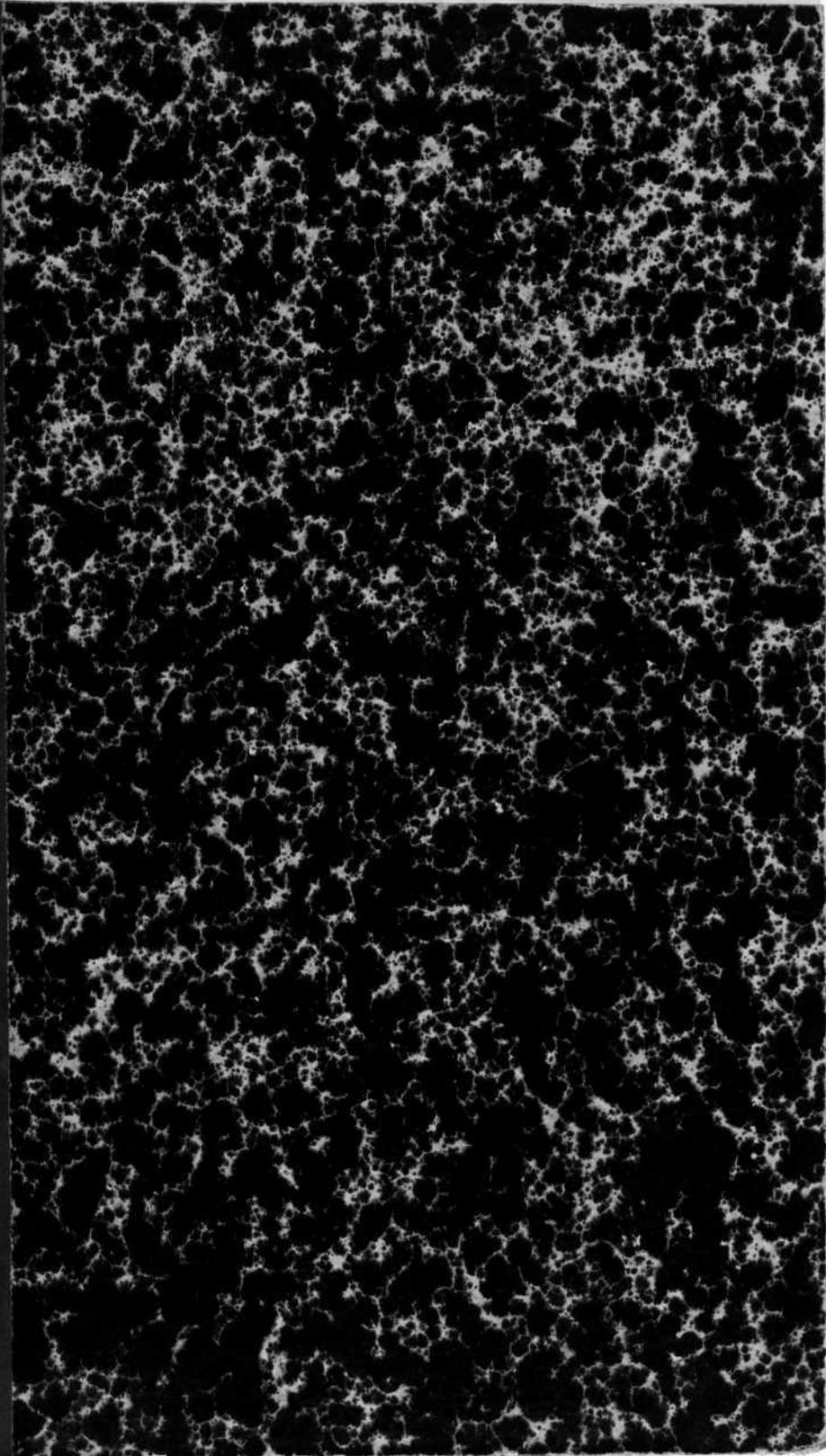
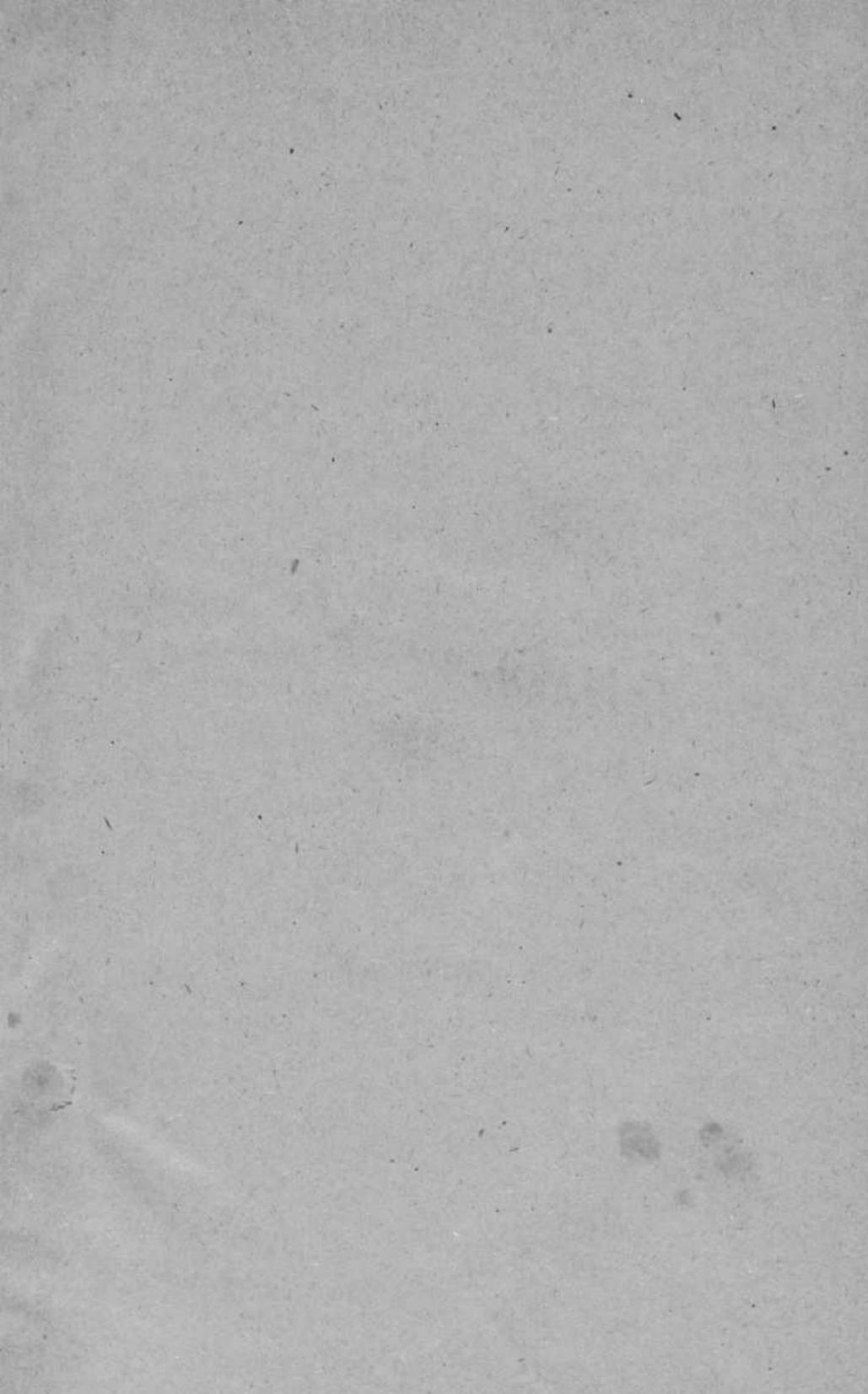


No.

110
111

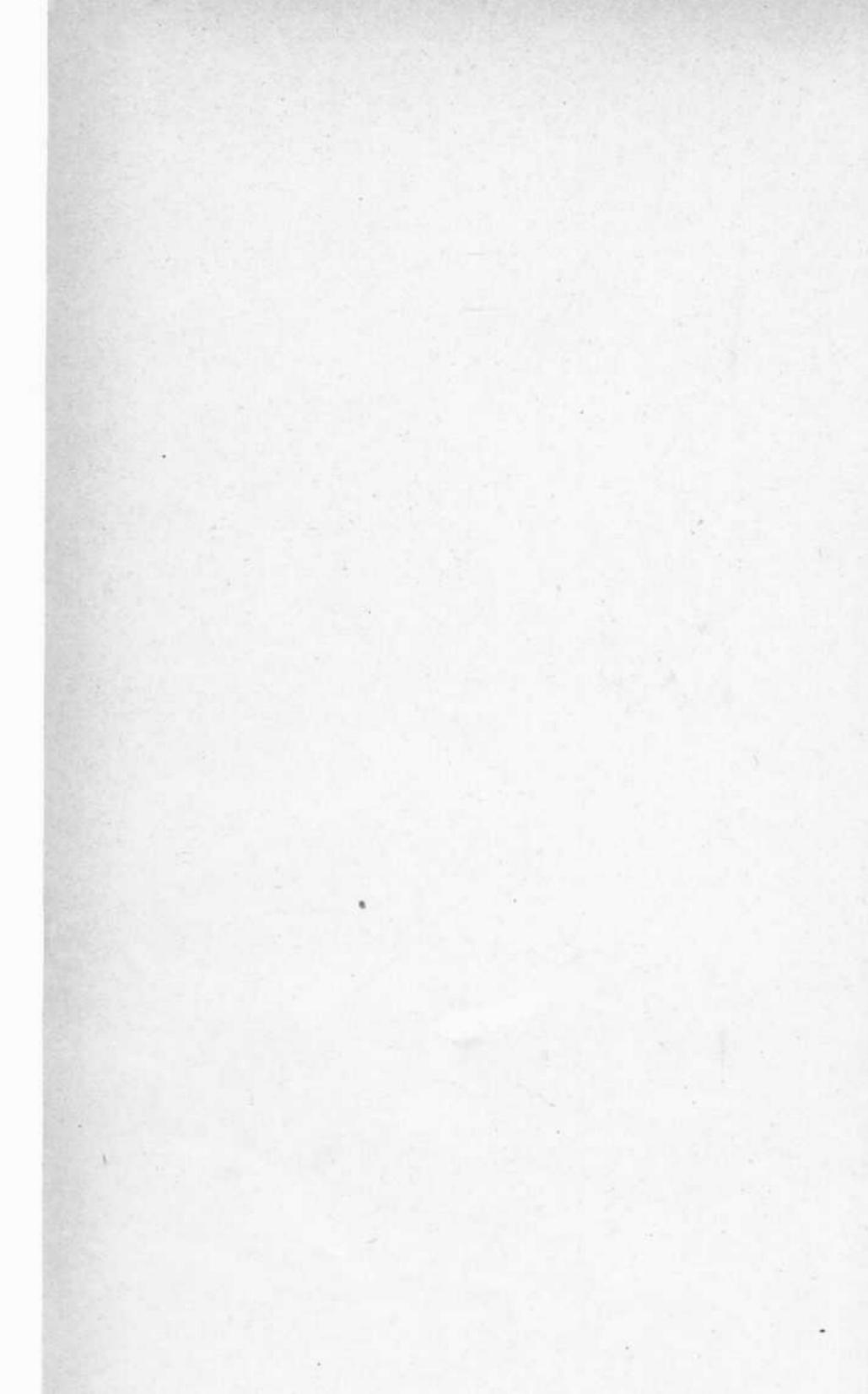














ESTRAÑA EVOLUCIÓN
DEL
BACILO COMA.

ESTRAÑA EVOLUCIÓN

DEL

BACILO COMA,

POR EL DOCTOR

SILVERIO DOMINGUEZ,

MÉDICO SUB-DIRECTOR

DEL LABORATORIO BACTERIOLÓGICO DE LA ASISTENCIA PÚBLICA
DE BUENOS AIRES.



VALLADOLID.

Imprenta, Librería Nacional y Extranjera de los Hijos de Rodriguez,

LIBREROS DE LA UNIVERSIDAD Y DEL INSTITUTO.

1889.

A MIS QUERIDOS AMIGOS

DOCTORES

D. TELÉMACO SUSINI,

Director del Laboratorio Bacteriológico: Catedrático de Anatomía Patológica en la Facultad de Ciencias Médicas de Buenos Aires.

D. JOAQUIN MENENDEZ,

Médico Director del Hospital de Pergamino: corresponsal del Círculo Médico Argentino.

Recuerdo y gratitud.

Silverio Domínguez.

Valladolid 1.º de Enero de 1889.



INTRODUCCIÓN.

LA Bacteriología, ciencia moderna, está ocupando la atención del mundo científico con el estudio de lo infinitamente pequeño, causa de las grandes alteraciones morbosas, y necesariamente todo lo que con esta ciencia se relacione, todo lo que tienda á ensanchar los conocimientos de esta rama de las ciencias médicas, tiene forzosamente que ser de gran utilidad, ya sea comprobando hechos demostrados, ó ya dando á conocer fenómenos no estudiados todavía, que aporten el contingente necesario para su adelantamiento.

La Bacteriología al penetrar en el dominio de la ciencia, ha tenido que derribar valientemente los falsos

ídolos de la antigua medicina, basada en el error, y sostenida por la ignorancia tradicional; ella ha venido oportunamente para sentar los principios de la verdadera etiología, y aun cuando todavía se encuentre en el primer periodo de desarrollo, es él, de tal manera vigoroso y precoz, que sus valiosas é inapreciables adquisiciones demuestran desde luego el grandioso porvenir que le está reservado.

Ciencia de hoy la Bacteriología, nacida principalmente del extraordinario talento de Pasteur, cuya sola figura basta para llenar á una nacion de legitima gloria, se encuentra actualmente en todo su apogeo en Alemania, presidida por el eminente Roberto Koch y varios otros sábios, que á fuerza de estudio y perseverancia, propios de los pueblos pensadores y positivos de la raza germánica, atesoran dia por dia importantes descubrimientos y ensanchan su campo de accion con inapreciables trabajos de una importancia y trascendencia tales, que es imposible prescindir de ellos si se quiere seguir paso á paso el desarrollo lozano de las ciencias médicas.

Surgida la Bacteriología al estudiar Pasteur el mecanismo de las fermentaciones, ha llegado ya á constituir una ciencia positiva, una ciencia clara y experimental, de la que no es posible prescindir sin caer en el rutinismo; y asi vemos que por ejemplo, un clínico que haya hecho un estudio á conciencia sobre la marcha, curso y tratamiento de la tuberculosis, que sigue con el estetoscopio la estension de las alteraciones anatomo-

patológicas, que implanta un tratamiento conveniente, de ninguna manera podrá prescindir de los estudios bacteriológicos, por que ellos la enseñan que el contagio vivo resida en el esputo, que este desecado y en forma pulverulenta penetra en el organismo, y como consecuencia natural, que se haga necesario destruir convenientemente la expectoración para así evitar la difusión del contagio, además, estando como está la cantidad de bacilos en razon directa con el curso y terminación de la enfermedad, sabrá que una tuberculosis, aun cuando el estado general diga lo contrario, no estará curada si el exámen del esputo revela la presencia del pequeño organismo, y sabrá estar prevenido para el pronóstico, sin que su juicio pueda ser desviado, ni ser engañado por falsas apariencias tan frecuentes en esta enfermedad.

El conocimiento íntimo de las propiedades biológicas de los agentes patógenos, está instituyendo una terapéutica racional y sensata, que aleja los ensayos empíricos de la vieja escuela, para si es posible llegar á la medicina matemática; así el *desideratum* de la ciencia contemporánea consiste en descubrir la causa íntima de todas las enfermedades, para poderlas neutralizar, y una vez patentizada la naturaleza y modo de obrar de los gérmenes, poder prevenir sus acciones patógenas de una manera clara y terminante.

No se trata de una de tantas teorías más ó ménos ingeniosas que han ocupado en épocas dadas la atencion del mundo médico, no se trata de uno de tantos siste-

mas que imperando por determinado tiempo en el dominio de la ciencia vienen á caer mas tarde en el olvido cubriendo de ridículo á sus creadores y propagandistas, no, la Bacteriología es una ciencia experimental, es una ciencia positiva que se impone con la convincente lógica de la verdad y de los hechos; es la sentida necesidad de las ciencias médicas, ya adivinada antiguamente por ilustres sábios, que no podian contentar las necesidades de su espíritu médico con los pretendidos efluvios y virus, ya adivinaban aquellas preclaras inteligencias un *algo organizado* que necesariamente debía obrar para producir los desórdenes morbosos, y ese algo, y aquella legitima aspiración consistía en los pequeños organismos, que no solamente producen las enfermedades infecciosas, sino tambien muchas otras de índole distinta, y quien sabe... si todas las alteraciones morbosas á las que está sujeta nuestra organización, por que el mundo de lo infinitamente pequeño actúa hasta en las funciones de nuestros mas insignificantes actos, y su poder es tan evidente, que sin su concurso sería imposible la vida, pues no todos los pequeños seres son enemigos del hombre, no; tenemos en ellos los poderosos coadyuvantes de los actos fisiológicos, y es lo natural que su presencia equilibre nuestras funciones, presidiendo la asimilación y desasimilación.

La Bacteriología aun no ha entrado de lleno en el dominio del cuerpo médico, por que se notan algunas resistencias por parte de personalidades altamente colo-

cadras en la ciencia, y estas resistencias son hasta cierto punto justificables si se considera que pasamos por una época en que arrastrados por el torbellino de las innovaciones y descubrimientos, es preciso pesar con ánimo sereno estas conquistas antes de ser aceptadas como preceptos, antes de sancionarlas como verdades inconcusas.

La clase médica algo aferrada á la ciencia tradicional, camina con paso medurado, y antes que ella aceptase una conquista en el terreno de la Bacteriología, era preciso que la ciencia nueva fuese accesible á todos, y hasta tanto que los hechos enunciados pudieran ser comprobados por cada individuo, no pasaba de ser para muchos nueva hipótesis, y una nueva teoría con la que se trataba de explicar la etiología de las enfermedades infecciosas; ahora que los estudios experimentales por su sencillez son á todos asequibles, ahora que las prácticas del laboratorio, son digamos así familiares, ahora es cuando la Bacteriología se abre camino con la lógica de la verdad, con la evidencia que dan sus resultados; las resistencias serian ahora inesplicables, serian mas que inesplicables absurdas, pues en la actualidad el estudio de lo infinitamente pequeño, es tan indispensable, como lo es la clínica á la cabecera del enfermo; y en verdad que á todos interesan estos estudios, y á todos preocupan estas cuestiones de tan palpitante interés, por que la Bacteriología está dominando los estudios médicos, por que ellos han entrado con su ayuda en su verdadera faz, en el verdadero terreno que precisaban estar colocados, en el terre-

no de los hechos demostrativos, en el terreno práctico y evidente, abandonando para siempre las hipótesis y teorías más ó menos ingeniosas con las que se nos ha estado abrumando incesantemente, hasta que hemos alcanzado esta época que podemos llamar época bacteriana, ó revolucionaria, que busca la causa precisa de las enfermedades, para atenuar el contagio vivo, y dar inmunidad al organismo, como se ha conseguido con el carbunco, con la rabia, y cuando esto no se pueda conseguir, que si se conseguirá, emplear un tratamiento razonado que por su simplicidad venga á ser casi matemático, aprovechando las mismas bacterias ya atenuadas, ó encontrando sus acciones antagonistas que llegarán á constituir la verdadera terapéutica microbiana; y esto no es la divagación que produce el entusiasmo, y la fé de una idea soñadora, es el resultado necesario de los esfuerzos de la actividad científica, y el final de las conquistas, que de dia en dia se suceden sin interrupción en esta ciencia tan atrayante.

*
* *

La historia de la Bacteriología, no se pierde como la historia de otras ciencias entre las nebulosidades del misterio, y las patrañas oscuras de la fábula, remontándose

á las edades del tiempo ignoto, donde la imaginación del sábio penetra á tientas para rehacer la época con los vagos indicios que descubra su perspicacia, pero no por eso deja esta ciencia de pertenecer á otro siglo que ya se la adivinó por ilustres sábios, que creían ser los animalillos invisibles de la atmósfera y del agua, los que producían algunas enfermedades, no conformándose con las causas á que las atribuía la época, envueltas en medio de efluvios, miasmas, influencias siderales, retropulsión de exantemas, y tantas otras á cual mas irrisorias, con las que no podían esplicarse satisfactoriamente la relación entre causa y efecto, ó sea el verdadero porqué de uná enfermedad.

En la historia de la medicina en la India, entre aquellos sacerdotes sagrados rodeados por el misterio y envueltos con el ropage de la ciencia, entre aquellos Brammas se consideraban algunas enfermedades de la piel, como el resultado de pequeñísimos parásitos que anidaban en el tegumento, favorecidos por el Wodum y el Bittum, y bajo la dependencia del celebre T,chestum.

En el siglo diez y siete se encuentra en la obra del sábio jesuita Anastasio Kirchier, gran naturalista y clínico, profundo filósofo y versado en la lingüística, alguna noción de parasitología, pues en la obra *Scrutinium de peste*, atribuye terminantemente á los seres animados invisibles la causa de las enfermedades.

Langius ó Lange es tambien otro de los adivinadores de la patología parasitaria, pues suponía que las enfer-

medades epidémicas eran debidas á los gérmenes invisibles que flotan en la atmósfera, los que penetrando en el organismo por variadas vías producen alteraciones más ó menos graves.

Estas terminantes ideas revelan bien á las claras la importancia que en aquella época tenían los gérmenes y la poca consistencia de la etiología dominante, etiología irrisoria, que un espíritu sagaz y una inteligencia nutrida en el estudio de las ciencias naturales tenía que rechazar necesariamente.

Lavoisier se ocupaba en el estudio de la fermentación del azúcar cuando se inventó el microscópio á fines del siglo diez y siete, con esta poderosa ayuda de observación tenía que avanzar la ciencia, y los estudios de Lavoisier hicieron fijar la atención de Leuwenhock al observar infinidad de corpúsculos ovoideos más ó menos alargados, estremadamente pequeños en la levadura, y en las descomposiciones orgánicas; la homogeneidad de aquellas formas y el aspecto organizado de aquellos cuerpos globulares, que se multiplicaban durante el acto de la fermentación, le hizo pensar que se trataba de verdaderos seres vivos.

Este importantísimo descubrimiento que abría senderos nuevos para el estudio de las ciencias naturales, no llamó la atención de los sábios y quedó en el olvido por espacio de un siglo, hasta que Cagnard-Latour en Francia, y Schwann en Alemania lo renovaron, y con el microscopio estudiaron las trasformaciones de la levadura

recien sembrada, viendo formarse poco á poco infinidad de células de generaciones diferentes, hijas las unas de las otras, y tan idénticas que les era imposible diferenciarlas cuando se hacian adultas.

Cagnard-Latour interpretó esta observación, creyendo que la levadura al producir la fermentación, lo verificaba por la misma vejetación, ó sea por la vida propia que llevan en si los elementos que acababa de observar, fenómeno esclusivamente producido por una actividad vital; esta trascendental observación ha servido de base para los importantes estudios que se han llevado á cabo, y que han corroborado plenamente las ideas de Spallanzani y Redi en Italia; Thinllad y Neetham en Inglaterra; Schwann, Helmholtz y Leibig en Alemania; y Buffon Lavoisier y Gay-Lusac en Francia.

Esta observación ha formado los cimientos incommovibles de la doctrina parasitaria, y la colosal figura de Pasteur en el escenario científico, el que ha construido la magna obra, con sus acabados estudios sobre las fermentaciones.

Las atinadas observaciones de Cagnard-Latour no produjeron mucha resonancia, porque privaba entonces la teoría de Leibig para explicar el fenómeno de la fermentación, que como se sabe consistía en el contacto del oxígeno del aire, teoría apoyada en los trabajos experimentales de Gay-Lusac que al ver por un año la conservación del mosto sin alteración alguna, tan pronto como se le ponía en contacto con el aire (para ellos el

oxígeno) se operaba, la fermentación; y lo mismo opinaban Berceilius y Mitscherlich, sin dar importancia á la íntima relación que existía entre la organización del fermento organizado, y el acto en si.

Se necesitaba la figura de un Pasteur, y el gran Pasteur llegó por fin con su estudio sobre la fermentación láctica, descubriendo la presencia de un ser vivo, que se reproduce por escisión, lo aísla y concluye por presentar el fermento láctico, que le sirve para practicar los notables esperimentos, que creo ocioso mencionar, por ser de todos conocidos.

Los químicos creían que las células de la levadura eran destruidas durante el acto de la fermentación, dando lugar á la formación de lactato de amoniaco, pero Pasteur desvanece el error y prueba evidentemente, que no solamente deja de formarse el amoniaco durante la fermentación alcohólica, sino que por el contrario, cuando accidentalmente se le agrega, este desaparece para entrar á formar parte en la constitución íntima de las células de la levadura; como coronamiento á estos primeros estudios, se encarga de pulverizar la antigua teoría de Leibig, es decir la del contacto del oxígeno del aire, y demuestra que los seres vivos, los vibriones de la fermentación viven y se multiplican prodigiosamente sin la acción del oxígeno, y que por el contrario este detiene la fermentación ó mata á los pequeños seres.

De aqui arrancan sus pacientes trabajos y de aqui nace la verdadera Bacteriología, al analizar las propieda-

des de los microorganismos y clasificarlos en los dos grandes grupos *anaeróbios* que son las bacterias que pueden vivir y desarrollarse sin el concurso del aire, y *Aeróbios* que precisan de él: aborda enseguida el fenómeno de la putrefacción, armado de su espíritu analítico y proverbial perspicacia, y descubre que es simplemente una fermentación originada por los vibriones microscópicos y sucediéndose tres actos, la fermentación, putrefacción y la combustión lenta: efecto los primeros de la acción de los anaeróbios y la combustión de los aeróbios.

La ciencia médica ante estos hechos tan importantes, y deseando despejar tanta incógnita y tanto problema sin resolver, se apropia la idea parasitaria y empieza á buscar la causa de las enfermedades, no tardando Póllender en Alemania de notar la coincidencia de encontrarse en la sangre de los carbunclosos unos bastoncillos especiales que nadie había visto ni conocido.

Davaíne examinando el 51 la sangre procedente del carbunco, demostró la presencia de cuerpos filiformes que carecían de movimiento, y muy semejantes á los observados por Pasteur en el fermento láctico y en la manteca rancia, y no dudo en atribuirles la causa de la enfermedad por la relación entre causa y efecto que debía coexistir: esta fué la primera conquista de la Bacteriología en la ciencia médica, y de este punto datan sus grandes triunfos, asegurándolos Pasteur con el estudio completo del bacilo del carbunco, y llegando á obtener su atenuación y terminando por plantear las vacunaciones preservatrices.

Estos trabajos llamaron justamente la atención del mundo científico y fué tal el entusiasmo que produjo y la reacción que se operó, que pronto fueron apareciendo notables investigaciones, surgiendo Koch con sus estudios sobre el carbunco, tuberculosis y mas tarde cólera; Gaffi con la fiebre tifoidea: Loeffler con la difteria; Fehleisen con la erisipela; Frilander con la neumonía; Neiser con la blenorragía; Lustgarten con la sífilis; y tantos otros que desarrollan la ciencia bacteriológica hasta llegar al dia en que se trabaja en todo el mundo civilizado con una actividad propia de su importancia y de su porvenir, descollando los nombres de Pasteur, Koch, Davaine, Klbes, Ebberth, Tomasi Crudeli, Ogston, Cohnlein, Flügge, Cohn, Zopf, Neisser y otros muchos hombres de ciencia que sería por demás prolijo el ir enumerando.

*
**

Una de las grandes conquistas de la Bacteriología ha sido el probar satisfactoriamente lo erróneo de la doctrina eterogénica, ó sea la generación espontánea, valiéndose simplemente con poner de manifiesto los gérmenes de la atmósfera, causa de aquella pretendida generación.

Era general creencia desde los tiempos antiguos que

unos seres daban origen á otros de especie distinta, que una existencia surgía del acaso, como por encanto, del azar, por fuerza misteriosa, sin que para nada intervinieran los seres de la especie misma; y así se encuentran en fábulas y leyendas los mas grandes absurdos, que salvando generaciones y mas generaciones han llegado hasta nosotros revestidos con la autoridad de sus propagadores y envueltos entre los preceptos científicos como hechos perfectamente definidos.

Se admitía sin reserva que los insectos eran el producto de la fermentación del cenago; los vermes salían de la arena por el mismo fenómeno; las ranas aparecían en los estanques, creadas por el limo; y segun nos legó el divino Virgilio en su obra inmortal, de las entrañas de un toro en putrefacción nacían los enjambres de las industriosas abejas; y así por el estilo, han llegado hasta nosotros multitud de crasos errores, que han pasado de época en época como verdades inconcusas y hechos incontestables.

Si la idea de la espontaneidad estaba tan profundamente arraigada para seres tan perfectos y definidos, fácil es comprender la fé y el convencimiento con que se aferrarían á la eterogenia, al ver con el microscopio los millares y millares de pequeños organismos, que no traían escrita su procedencia, y que carecían de árbol genealógico: la teoría se afirmó más y más en su base, y la generación espontánea como artículo de fé científica, tenían que aceptar todos los hombres ilustrados de aquella

época: pero no faltaron observadores profundos que dejasen pasar tales hechos, y empezaron á destruir muchos de estos disparates, estimulados por la prueba experimental en que hacían descansar sus principios los sostenedores de la generación espontánea, al ver la aparición de profusión de organismos que se desarrollaban en la carne en descomposición.

El primero que inició la campaña, fué el italiano Francisco Redi en el año 1648, empezando por demostrar que los vermes que se desarrollaban en la carne en putrefacción, eran solamente debidos á las larvas que en ella depositaban las moscas, comprobandolo al cubrir con una gasa el trozo de carne que permanecía intacto, mientras en la tela protectora estaban patentes las larvas que allí habían depositado las moscas.

Needham, fogoso eterogenista del siglo pasado, esplicaba la generación espontánea, por una *fuerza vejativa*, que hacía entrar en movimiento las partes vitales de la materia, fundándose en que, al depositar en un vaso herméticamente cerrado una infusión vegetal, despues de trascurridos unos dias se desarrollaban millones de seres que nadie había depositado, ni permitido la entrada allí; experimento que el sábio Spallanzani repitió para probar lo erróneo de la doctrina, haciendo elevar la temperatura de la infusión y manteniéndola por mas tiempo, tres cuartos de hora, en lugar de unos minutos que bastaban á Needham para, segun él, no destruir la fuerza vejativa: resultado opuesto que se sigue nece-

sariamente al matar los gérmenes con la temperatura elevada, ó esterilización, y muertos estos imposible el ver surgir una existencia.

Después de los repetidos experimentos de Spallanzani, de Schwann que daban de día en día formidables golpes á la vacilante teoría, aparece en último término Pouchet con su *Eterogénia*, y entran en lid las figuras de Daumas, Bernard, y Cuatrefages, apareciendo oportunamente la personalidad de Pasteur, que dá el golpe de gracia, y concluye con la decantada generación espontánea, poniendo de manifiesto que la ebullición mata los organismos inferiores dejando inalterables los líquidos, siendo necesarias las altas temperaturas para la esterilización, por que existen unos organismos resistentes bajo la forma de esporos, que precisan elevadas temperaturas, ó una esterilización fraccionada; y no se cansaba en demostrar la acción de los gérmenes del aire sin que para nada actúe la fuerza vejetativa, ni fuerza alguna capaz de hacer surgir un átomo viviente, porque como sabemos toda célula proviene de otra similar, y por consiguiente todo ser hijo de un otro semejante á sí, sin que alterarse pueda esta ley general que tiene establecida la naturaleza; la prueba decisiva consistía como se sabe, en filtrar sencillamente con tapones de algodón el aire, que hacía pasar á un líquido nutritivo convenientemente esterilizado, este líquido permanecía inalterable, mientras en el algodón se veían depositados los gérmenes que el aire había dejado por filtración á su paso.

La teoría de Bechamp es el último baluarte donde acosada se refugió la eterogenia; ella consiste en el *microzima* ó granulación molecular movable que se ve en la superficie de los líquidos y hasta en los elementos anatómicos, cuyas granulaciones segun Bechamp dan origen á las bacterias obrando como verdaderos fermentos, y por consecuencia siendo la causa de todas las alteraciones, sin admitir ni siquiera los gérmenes del aire.

Pasteur ha derribado este último baluarte extrayendo con todas las prácticas de esterilización sangre y orina del hombre, y de los animales sanos, y han permanecido inalterables con solo tenerlos al abrigo de los gérmenes del aire.

La preexistencia de los gérmenes tambien ha caido destruida por esta misma experimentación, y reforzada por los resultados que se ven en sitios que como en la cripta de Bordeaux no haya corrientes de aire, y la sequedad sea absoluta, en cuyo caso los cadáveres se momifican sin que actúen en ellos el bacterio termo, ni otros de cualquiera especie.

Vemos por lo tanto que la Bacteriología armada con la antorcha luminosa de la verdad, ha destruido los más crasos errores que imperaban en la ciencia, separando los viejos obstáculos que dificultaban su marcha por el camino del adelanto y de los descubrimientos, y con su ayuda avanzan la medicina y las ciencias naturales con una rapidez vertiginosa, afanosas por llegar cuanto antes á la suprema aspiración de la época presente.

Convencidos de la importancia que entrañan los estudios bacteriológicos á los que hemos dedicado nuestros esfuerzos en el laboratorio de la asistencia pública de Buenos Aires, nos atrevemos hoy á dar á conocer nuestras observaciones acerca de la evolución del bacterio del cólera, que por su rareza merecen tomarse en consideración, por lo que importar pueda al estudio de esta enfermedad, que si bien estudiada por las celebridades contemporáneas, no por eso deja de ofrecer interés, en cuanto á su evolución bacteriológica se refiere.

Espondremos las ideas dominantes sobre este punto interesante, y despues de dar á conocer la evolución normal que en cientos de culturas hemos seguido durante un año consecutivo, trataremos de reseñar nuestros trabajos, describiendo la estraña evolución que ha llamado nuestra atención, y que hoy hacemos del dominio público, como contribución al estudio del bacilo-coma.





CAPÍTULO PRIMERO.

GENERALIDADES SOBRE EL CÓLERA.—KOCH Y SU DOCTRINA.

DESDE los primeros albores de la Bacteriología, cuando se estaban resolviendo las trascendentes cuestiones del carbunco, que había de dar el científico resultado que buscaba el ilustre Pasteur; desde entonces se pensó en el origen microbiano del cólera asiático, dadas sus condiciones de infecciosidad y contagio; origen microbiano que se creyó encontrar en el producto de las cámaras diarréicas como síntoma dominante en esta enfermedad; y así vemos á Virchow en el año 48 y á Pouchet el 49 estudiar los vibriones que descubrieron en las diarreas coléricas, de formas diversas, á los que no pudieron asignarles un preciso papel etioló-

gico: mas tarde Pacini el 54 encuentra un bacterio alargado, y creyendo que á este debían referirse todas las alteraciones epiteliales del intestino, funda su ingeniosa teoría que ha privado en la ciencia por algun tiempo, apoyada en la trasudación intestinal que concluía por ocasionar el espesamiento de la sangre.

Hallier el 67 estudia un hongo al que atribuye la producción del cólera asiático, por que en una gramínea de la India se encontraba en abundancia: Hayen y Reynaud descubrieron el 73 en las cámaras diarréicas muchas especies de bacterias; y así se fueron de día en día sucediendo los descubrimientos seguidos de fracasos, sin saber á que atenerse sobre la etiología de esta enfermedad, hasta que estallando en Egipto el 83 la epidemia cólerica, y deseosa la ciencia de resolver punto tan importante, se nombraron comisiones técnicas encargadas de resolver el trascendental problema; y estas comisiones mandadas allí iniciaron la científica campaña que dió por resultado el conocimiento exacto y preciso de la bacteria que dá origen al cólera morbo asiático, resultado debido al Dr. Roberto Koch presidente de la comisión alemana, quien posteriormente en la India tuvo ocasión de confirmar sus primeros estudios, hoy demostrados por todo el mundo científico.

La importancia capital de este descubrimiento ha causado una verdadera revolución en la ciencia, que resalta al considerar cuán ridículas no serían ahora las célebres medidas profilácticas que tendían á evitar la difu-

sion del contagio por la atmósfera; aquellas medidas en la correspondencia que cual nuevo caballo troyano introducian furtivamente en las poblaciones al temido enemigo; cuan ridículos no serian las prácticas personales!... y cuan ridículas tambien los tratamientos basados en el espesamiento de la sangre, en la influencia nerviosa, y en la mayor ó menor cantidad de ozóno que pudiera contener la atmósfera.

Ahora, gracias á los conocimientos que han prestado los estudios bacteriológicos, sabemos con toda evidencia la verdadera etiología del cólera, y con esto y con la especial localización del bacterio, y con su modo de obrar, se instituye una profilaxis razonada y científica, y habiendo alcanzado en el estudio de esta enfermedad hasta los modos de su difusión, se ahorran prácticas, y procedimientos inquisitoriales, y se llega con el aislamiento á circunscribir los focos, y en muchas ocasiones hasta salvar comarcas que quedan libres del contagio; y aun cuando todavía carezcamos del específico preservativo sencillo, y no tengamos á mano el medicamento ó fórmula terapéutica segura para curarla; tenemos en cambio el método higiénico profiláctico que rigurosamente seguido evita el desarrollo de la enfermedad, y disponemos de un tratamiento razonado con el que mucho se ha conseguido, y con la esperanza de resolver pronto este asunto de tanta trascendencia.

Es el cólera asiático una enfermedad infecciosa y contagiosa causada por el coma-bacilo de Koch, que

tiene su origen en el delta del Ganges, provincia de Bengala en la India, desde donde se difunde para sembrar el espanto y la desolación por todas las comarcas y por todas las naciones.

La cuna ó foco de esta enfermedad está en Sunderbun, vasto arenal de unas siete ú ocho mil millas cuadradas, por donde serpentean caprichosamente los rios Ganges, y Brahmapoutra los que dan nacimiento á infinitas ramificaciones y cuyos cáuces revestidos de una lujuriosa vejetación, al sufrir el flujo y reflujo de las corrientes reciben el depósito de detritus animales y vejetales que vienen á servir de alimento á los focos infecciosos, que los desbordes se encargan luego de trasplantar por todo el territorio sembrando las grandes colonizaciones bacterianas.

La difusión del cólera se opera de varias maneras, siendo el agua su principal agente de trasmisión, llegando á Europa y América con los buques, aunque tambien sea posible á Europa por la via terrestre á través del Asia.

A Puri y Hurdwar, lugares célebres de peregrinacion llegan todos los años mas de quinientas mil almas, téngase en cuenta la falta de higiene de estas grandes masas, que beben un agua contaminada, que se bañan en los estanques, que vienen sufriendo mil privaciones en el trayecto de su largo viaje, que la resistencia orgánica debe ser poca ó nula al llegar allí, y se comprenderá que en ellos se cebe el cólera, y que con ellos se desparrame llegando hasta el mar Rojo, Suez y hasta

Persia con las caravanas, encargándose despues la vida comercial de llevarlo por todas partes, como ha sucedido en todas las epidemias que han azotado á la Europa y América.

Probado está terminantemente que en ninguna otra parte puede nacer el cólera, y que siempre la importación es la causa de las epidemias; como tambien está probado como verifican los buques este trasporte, cuestión demasiado sabida y ventilada, pudiendo dar detallada razon las invasiones á América el 32, el 48, el 53, el 74 y el 86; siempre es el individuo el que siembra el contagio.

El Doctor Roberto Koch encontró en su escursión científica al Egipto el 83 una bacteria encorvada en el intestino delgado en su última porcion mas particularmente, bacteria no conocida hasta entonces, y que sus trabajos en la India despues la permitieron afirmar ser la generadora del Cólera; este microorganismo contenido en las deposiciones, y paredes intestinales es el *Komma-bacillum* de Koch, el bacilo-coma por tener la forma de este signo de la escritura, creyó oportuno designar asi el sábio Aleman, quien describe de esta sencilla manera sus propiedades y evolución en su célebre conferencia (1).

«Procediendo el exámen microscópico del intestino y su contenido, resultó que en algunos casos, especialmente aquellos en que se encontraban enrojecidas en sus bordes las placas de Peyer, y coetáneamente á esta ru-

(1) Traducción del Dr. Bellow, Médico 1885.

befacción había tenido lugar una invasión de bacterias. El aspecto que presentaban era como el que han podido ustedes observar en una de las preparaciones expuestas (figura 1.^a), que proviene de uno de estos casos. Las bacterias habían penetrado parcialmente en las glándulas tubiformes, en parte deslizándose entre el epitelio y la membrana principal habían llegado hasta despegarlo de ella. En otros puntos era fácil ver que habían penetrado aún más profundamente en los tejidos. Encontráronse otros casos en que despues de estas bacterias, que en cuanto á su forma y tamaño tenían un aspecto bien determinado, se podían distinguir otras bacterias y dedicarles una atención especial; despues de estas bacterias, repito, habían penetrado otras en las glándulas tubiformes y en los tejidos vecinos, entre ellas bacilos mayores y gruesos y bacilos muy delgados. Se encuentra aquí algo análogo á los casos de alteraciones difteríticas ó de necrosis de la mucosa intestinal y en las ulceraciones tifoideas, en las que en los tejidos desorganizados por las bacterias patogénicas, penetran mas tarde otras bacterias que no lo son. Desde un principio hubo, pues, necesidad de no considerar las bacterias de que hablábamos como algo enteramente indiferente á la evolución del cólera, mientras que todo lo demás hacía la impresión de ser cosa secundaria; pues las bacterias primeramente mencionadas precedían siempre á las demas, penetraban más profundamente y parecían siempre haberlas franqueado el paso á las otras.

Por lo que toca al contenido del intestino no fué posible al principio adquirir de él una idea precisa, pues solo fué posible disponer para la investigación de casos poco adecuados, en los cuales el dicho contenido se encontraba ya sanguinolento y corrompido. Existían en él un sin número de bacterias de las clases más diversas, de manera que no era ni posible fijarse en los bacilos del cólera. Solo despues de haber hecho la disección de algunos casos agudos y que no presentaban complicaciones, en los cuales aún no había habido hemorragias y en los que el contenido del intestino no había pasado al estado de descomposición pútrida, pude reconocer que mientras más reciente y ménos complicado es un caso, más predomina tambien en el intestino una clase determinada de bacterias, y bien pronto pude convencerme de que era la misma que había encontrado en la mucosa. Esta circunstancia naturalmente debía contribuir á fijar siempre más la atención en esta clase de bacterias. Las he examinado en todos sentidos para fijar bien sus particularidades y lo que acerca de ellas puedo decir es lo siguiente:

Estas bacterias que por su forma peculiar he denominado bacilos de «coma» ó comiformes, son más pequeños que los bacilos de la tuberculosis. Los datos numéricos no son capaces de darnos una idea clara del tamaño, la longitud y el grueso de las bacterias, prefiero por lo mismo comparar sus dimensiones con otros objetos ya conocidos para que sea posible formarse inmediatamente una idea de ellas.

Como los bacilos de la tuberculosis son ya conocidos de todos, quiero comparar con ellos las bacterias del cólera. Los bacilos del cólera tienen además la mitad ó á lo sumo las dos terceras partes de la longitud de los bacilos de la tuberculosis, pero son más toscos, más gruesos que ellos y ligeramente encorvados. Esta curvatura por lo comun no es mas pronunciada que la de una coma; pero en ciertos casos se acentúa más hasta llegar á un semicírculo (figuras 2 y 3). En algunos casos la curvatura es doble, de modo que á una coma se agrega otra, pero en sentido inverso, afectando así la forma de una S. Creo que esto puede explicarse aceptando que despues de la división han quedado adheridos unos á otros dos individuos que presentan por lo mismo una apariencia como de una curva más pronunciada. En el cultivo se encuentra otra forma de desarrollo muy notable y que es muy característica para los bacilos comiformes. En una de las preparaciones que presenté á Vdes. se encuentra esta forma en varios de los ejemplares magníficos y tuve ocasión al mostrarlos de llamar la atención sobre ellos. Quiero decir que con frecuencia los bacilos de coma afectan la forma de un hilo más ó ménos largo (figura 4), pero no forman hilos derechos como los del bacilo del carbunco (anthrax) ó hilos sencillamente ondeados como tal vez pudiera inferirse del aspecto de la imágen microscópica, sino espirales muy delicadas, que en cuanto á su longitud y aspecto general, son muy parecidos á la espiroqueta recurrente. Yo no podría distinguirlos

si los tuviera uno al lado del otro. Por esta forma de evolución tan curiosa me inclino á creer que el bacilo comiforme no es un bacilo legítimo, sino más bien una forma de transición entre bacilos y espirilos. Aun es posible que sea un legítimo espirilo del que no tenemos á la vista sino fragmentos. Se llega á ver en otros espirillos como en *Spirilla undula* que los ejemplares muy cortos no forman la espiral completa si no constan solo de varillitas muy cortas más ó ménos encorvadas. Volveré á tratar más tarde de este punto que tiene no poco interés.

Al enseñar una de las preparaciones que contenía bacilos comiformes cultivados en caldo, hice saber á Vdes. que se crían en esta sustancia. Se desarrollan en ella con extraordinaria rapidez y abundantemente, pudiendo utilizarse esta circunstancia para estudiar sus demás propiedades, suspendiendo una gota de un cultivo de caldo en un vidrio de microscopio y examinándola directamente bajo una amplificación poderosa. Cuando se han aglomerado en gran número al borde de la gota y se revuelven y se agitan, parecen un enjambre de mosquitos y entre ellos descuellan aquí y allí esas hebras espirales que también se agitan con bastante vivacidad, de manera que el conjunto presenta un aspecto particular muy caracterizado. Pero los bacilos comiformes también crecen en otros líquidos, ante todo en leche se desarrollan muy pronto y en gran cantidad. No coagulan la leche, ni precipitan la caseína, como lo hacen

otras bacterias susceptibles tambien de desarrollarse en la leche. La leche no cambia, pues, su aspecto, pero si se toma una gota de la superficie y se examina con el microscopio abunda en bacilos. Crecen tambien en el serum sanguíneo, en el que tambien se desarrollan pronto y se multiplican abundantemente. Terreno muy propicio para los bacilos comiformes es tambien la gelatina nutritiva de la que presenté á Vdes. una muestra. Esta gelatina, como ya se dijo al explicar el método de cultivo, puede servir para facilitar la busca de los bacilos y hacer muy segura la investigación. Pues sucede que en la gelatina nutritiva las colonias de bacilos comiformes adquieren una forma muy determinada y característica, y como no la presenta ninguna otra clase de bacterias, segun me lo manifiestan el alcance de mis experiencias y de mis conocimientos.

La colonia cuando es reciente, semeja á una gota pálida muy pequeña (fig. 5), pero que no es perfectamente circular, como generalmente lo son en la gelatina las colonias de bacterias, sino que presenta un contorno más ó ménos irregular, formando concavidades, y algunas veces áspero ó dentellado. Hay que advertir, además, que desde muy temprano adquiere un aspecto granulado, y no es de contextura tan uniforme como otras colonias de bacterias.

Conforme va creciendo la colonia, va notándose más y más la granulación y al fin remeda á un montoncito de bolitas muy refringentes. Pudiera comparar el aspecto

de una de estas colonias con el de un montoncito de pedacitos de vidrio. En el crecimiento ulterior, la gelatina se licua en las inmediaciones próximas de la colonia de bacterias y esta última se hunde un poco en la masa gelatinosa. De este modo se forma en la gelatina una depresión á manera de embudo en cuyo centro aparece la colonia como un pequeño punto blanquizco (fig. 5). Este proceder tambien es enteramente peculiar, por lo menos se ve de esta manera en muy pocas clases de bacterias, y nunca, que yo sepa, de un modo tan pronunciado como en los bacilos comiformes. Se puede observar con más claridad esta inmersión de las colonias si se produce un cultivo puro, como se explicó al describir los métodos de cultivo. Se procede, pues, buscando en la lámina de gelatina y por medio de un microscopio de poco aumento una colonia apropiada, se toca con un alambre de platino quemado previamente; por medio del alambre se trasportan á un tubo de reacción lleno de gelatina y se tapa el tubo con un tapon de algodón esterilizado. Un cultivo limpio obtenido por este procedimiento crece lo mismo que la colonia de la lámina de gelatina. Poseo una colección numerosa de cultivos puros de bacterias sembrados del mismo modo, pero nunca he podido observar en ninguno de ellos cambios como los que producen los bacilos comiformes al ser trasplantados á la gelatina. Inmediatamente que comienza á desarrollarse el cultivo se observa igualmente en ella un pequeño embudo (fig. 5) que marca el punto de inocu-

lación. Paulatinamente va poniéndose líquida la gelatina alrededor de este punto; puede entonces verse con toda claridad la pequeña colonia que va extendiéndose más y más, pero siempre queda encima de ella un punto hundido, profundo, que en medio de la gelatina parcialmente disuelta, aparece como si flotara una burbuja de aire sobre la colonia de bacilos. Se siente uno tentado á creer que la vejetación de los bacilos provoca no solo la licuefacción de la gelatina sino tambien la evaporación rápida del líquido formado. Conocemos ya una cantidad regular de bacterias que cultivadas en probetas de reacción liquidan igualmente la gelatina, partiendo del piquete de inoculación, pero nunca se ha observado en ellas un hundimiento de esta clase y nunca tampoco ese hueco á manera de vejiguita en la superficie. Debo hacer notar que la licuefacción de la gelatina provocada por una colonia aislada, nunca se extiende mucho, como puede observarse con mayor comodidad en una capa de gelatina extendida sobre una lámina de vidrio. Puede calcularse en 4 milímetros la dimensión del espacio licuado por una colonia. Otras bacterias son capaces de licuar la gelatina en una extensión mucho mayor, de manera que una colonia adquiere un diámetro de un centímetro y más. En los cultivos de bacilos comiformes sembrados en probetas de reacción, la licuefacción de la gelatina, partiendo del piquete de inoculación, se extiende paulatinamente y muy despacio, de manera que se necesita una semana, poco más ó ménos, para que

toda la gelatina pase al estado líquido. En todas estas propiedades, por insignificantes que en sí parezcan, conviene fijar la atención, pues sirven para distinguir los bacilos comiformes de las otras clases de bacterias.

También pueden cultivarse los bacilos antedichos en Agar-agar al que se habrá añadido caldo y peptona. La jalea de Agar-agar no se pone líquida bajo la acción de los bacilos. También pueden cultivarse (y es esto muy importante para algunas cuestiones) sobre patatas cocidas. Crecen encima de las patatas de un modo muy parecido á los bacilos del muermo. Estos últimos, como tal vez habrán visto Vdes. en los cultivos presentados en la exposición de higiene, forman una costra delgada como papilla y de color achocolatado. Parecida á ella pero no tan oscura, sino más bien de un color gris-café claro es la que forman los cultivos de bacilos comiformes criados sobre patatas.

Las temperaturas más propicias á los bacilos comiformes son las de 30° á 40° centígrados, pero no son muy sensibles á la disminución de temperatura. Se han hecho experimentos que demuestran que á 17° c. todavía crecen muy bien, aunque proporcionalmente más despacio. A menos de 17° c. el crecimiento es insignificante, y parece paralizarse por completo á menos de 16°. En este respecto concuerdan de una manera notable con los bacilos de carbunco, que para su desarrollo presentan el mismo límite inferior de temperatura. Hice una vez el experimento del influjo que tienen las temperaturas

más bajas sobre los bacilos comiformes, para saber si tal vez una temperatura muy baja no solo impediría su desarrollo, sino que tal vez pudiera matarlos. Con este objeto se expuso un cultivo durante una hora á una temperatura de ménos de 10° c.; en este espacio de tiempo se había helado por completo. Sembrando despues algo de ella en gelatina no se notó en su crecimiento ni la menor diferencia. En consecuencia soportan perfectamente la congelación. No sucede lo mismo con la privación del aire y del oxígeno. Cesan de crecer inmediatamente que se les priva del aire, y segun esto, admitiendo la clasificación de bacilos aeróbios y anaerobios pertenecen á la clase de aeróbios. Puede uno cerciorarse de ello de un modo sencillo: Si habiendo hecho una siembra en gelatina todavía líquida sobre una lámina de vidrio se coloca encima de la gelatina, en los momentos de comenzar la solidificación, una laminita de mica tan delgada como sea posible y que cubra cuando menos la tercera parte de la superficie de la gelatina. Debido á su elasticidad la hoja de mica se aplica perfectamente á la superficie de la gelatina, y cierra así la entrada al aire en la parte cubierta. Se ve entonces al verificarse la evolución de las colonias que estas solo nacen en la parte no cubierta, penetrando solo muy poco, apenas unos dos milímetros bajo la lámina de mica, distancia hasta la cual por difusión, puede penetrar el aire. Es verdad que se forman colonias sumamente pequeñas no visibles á la simple vista, que probablemente deben su existencia al

oxígeno detenido en la masa de la gelatina, pero que ya no tienen crecimiento ni desarrollo ulterior. Por lo demás, el experimento se ejecutó también de otro modo. Bajo la campana de la máquina neumática fueron colocados unos tubitos conteniendo gelatina nutritiva sembrada con bacilos comiformes, otros tubitos preparados del mismo modo se dejaron expuestos al aire libre por vía de comprobación. Resultó que en los colocados debajo de la campana nada se desarrollaba, pero sí, en los colocados afuera. Pero si después se exponían al aire los que habían estado debajo de la campana comenzaban entonces á desarrollarse también. No se encontraban, por consiguiente, aniquilados sino que únicamente carecían del oxígeno necesario para su desarrollo. Algo semejante pasa exponiendo los cultivos á una atmósfera de ácido carbónico, Mientras que los tubos expuestos al aire por vía de comprobación se desarrollaban del modo acostumbrado, los que se encontraban en la atmósfera de ácido carbónico permanecían sin desarrollarse. Tampoco en este caso mueren, pues después de haber estado algún tiempo en el ácido carbónico comienzan á crecer inmediatamente si se sacan de él.

En resumidas cuentas, y como ya repetidamente lo he indicado, los bacilos comiformes crecen con rapidez extraordinaria. La vegetación llega muy pronto á su apogeo, en el que no permanece sino muy corto tiempo y decrece después con prontitud. Los bacilos que se extinguen aparecen ya arrugados y encogidos, ó más bien

hinchados, y en este estado no admiten del todo ó solo difícilmente las materias colorantes. El mejor modo de observar las fases peculiares del desarrollo de los bacilos comiformes consiste en tomar sustancias ricas en los dichos bacilos, pero que á la vez contengan otras bacterias, por ejemplo, el contenido de los intestinos ó las deyecciones coléricas, se colocan sobre tierra húmeda ó se extienden sobre lienzos que se cuidará de conservar húmedos. Los bacilos se desarrollan en muy corto tiempo, como en 24 horas y de un modo extraordinario. Cunden al principio con tal rapidez que desalojan á las otras bacterias que existen con ellas, se forma en cierto modo un cultivo limpio natural, y en el exámen microscópico de la sustancia tomada de la superficie de la tierra ó de los lienzos húmedos, se obtienen preparaciones que casi no contienen más que bacilos comiformes. He enseñado á Vdes. una preparación de esta clase (fig. 3.^a), que provenía de la ropa húmeda y súcia por las deyecciones de un colérico. Pero no es de larga duración este desarrollo exuberante de los bacilos comiformes. A los dos ó tres dias comienzan á desfallecer y preponderan entonces las otras bacterias. Las circunstancias son, pues, enteramente análogas á las de su crecimiento en el intestino. Allí tambien hay al principio una propagación muy rápida, pero luego que pasa el período culminante de la vegetación, que dura solo poco tiempo, y sobre todo cuando hay trasudaciones de sangre en el intestino, desaparecen de nuevo los bacilos co-

miformes y se desarrollan en su lugar las otras bacterias, sobre todo las que caracterizan los estados de putrefacción. Por esta razón casi quisiera yo admitir que si desde un principio se introducen los bacilos comiformes en un líquido corrompido que contenga ya muchos productos del proceso vital de otras bacterias, y sobre todo de las bacterias de la descomposición, no se desarrollarían del modo debido sino que morirían muy pronto. Pero sobre este punto no se han hecho aún los experimentos suficientes, es solo una sospecha que fundo en las experiencias adquiridas con el cultivo de otras bacterias. Este punto es importante bajo el punto de vista de que no es indiferente saber si alojándose los bacilos comiformes en las fosas de los inodoros encontrarían un terreno propicio ó tal vez muy adverso. En el primer caso se multiplicarían y debería destruirseles por la desinfección, en el segundo morían por sí, y no habría necesidad de desinfectar. En vista de todas las experiencias adquiridas hasta el presente, opinaría yo por lo segundo.

Los bacilos comiformes se desarrollan mejor en líquidos que contienen sustancias alimenticias en proporciones no muy escasas. Sobre este punto se hicieron varios experimentos. Se hicieron diversas diluciones de caldo de carne de reacción alcalina y se sembraron en ellas bacilos comiformes. En uno de estos experimentos resultó, que el caldo en una dilución de $\frac{1}{8}$ no era ya líquido á propósito. En otros experimentos crecían toda-

vía en una dilución al $\frac{1}{10}$. Estos experimentos, por supuesto, será necesario repetirlos y hacerlos en más vasta escala, para determinar un límite seguro; pero ya estos resultados indican que no debe exagerarse mucho la dilución y que los bacilos comiformes exigen cierta concentración de las sustancias que los alimentan.

En las experiencias de cultivo resultó, además, que estas sustancias, por lo menos la gelatina alimenticia y el caldo de carne, no deben dar en lo más mínimo reacción ácida. Luego que la gelatina da la menor traza de reacción ácida, el crecimiento de los bacilos se vuelve muy raquítico. Cuando la reacción es francamente ácida el crecimiento de los bacilos se paraliza por completo. Cosa rara es, en verdad, el que no todos los ácidos parecen ser contrarios al bacilo comiforme, pues la superficie de una patata cocida también presenta reacción ácida, debida si no me equivoco, á su contenido de ácido málico. A pesar de eso, los bacilos se propagan en abundancia en las patatas, de manera que no puede aseverarse que todos los ácidos impiden el desarrollo, pero de todos modos existe cierta clase de ácidos que tienen esta propiedad. En el caldo de carne probablemente se deberá el efecto al ácido láctico ó á algún fosfato ácido.

Como es de interés saber el influjo que las sustancias retardantes del desarrollo vital tienen sobre el crecimiento de los bacilos comiformes, se examinaron varias sustancias con esta mira. Quiero en esta ocasión hacer no-

tar, que el impedir el desarrollo aun no significa la desinfección, se trata sencillamente en estos experimentos de determinar aquella cantidad de una sustancia que basta precisamente para impedir el desarrollo de las bacterias. Pero con esto no quedan muertas como lo exige la desinfección. Es una cosa semejante al experimento con el ácido carbónico, allí solo se impidió el crecimiento por el tiempo en que se dejaba obrar dicho ácido. Lo mismo sucede con los datos numéricos de que voy á dar cuenta.

El iodo ha sido señalado por Davaine como un veneno muy activo para las bacterias y en casos determinados con muchísima razon. Los esperimentos de Davaine consistían en tomar un líquido que contenía bacilos de carbunco, por ejemplo, sangre carbuncosa, lo diluia considerablemente hasta obtener realmente agua limpia con algunos bacilos carbuncosos en suspensión. A este líquido le añadía iodo, resultando que dichos bacilos morían bajo el influjo de cantidades pequeñísimas de iodo. Pero las circunstancias prácticas son muy distintas de esta. Nunca tendremos que impedir el desarrollo de los virus en el agua pura, sino en el líquido alcalino que guardan los intestinos, ó tambien en la sangre ó en los humores de los tejidos, y en todos estos casos el iodo no permanecerá en el estado libre, sino que inmediatamente formará combinaciones con los álcalis. La experiencia sobre la acción del iodo se ejecutó, pues, añadiendo agua iodada á un caldo de concentración estrictamente sufi-

ciente para formar un buen líquido nutritivo. El iodo se disuelve en el agua poco más ó menos en la proporción de 1 á 4000. De esta solución de iodo se mezcló un centímetro cúbico con diez de caldo, pero esta adición no estorbó en lo más mínimo el crecimiento de los bacilos; el límite en que el iodo impida el crecimiento de los bacilos debe, por consiguiente, ser muy inferior al de la cantidad empleada en este experimento. No me parece necesario proseguir las investigaciones en esta dirección, porque prácticamente no es posible administrar el iodo en cantidades mayores á la que aquí se empleó.

El alcohol impide el desarrollo de los bacilos comiformes solo cuando se añade una parte á diez de licor nutritivo, es decir, en la proporción de un 10 por ciento. Es una concentración también imposible en la práctica.

La sal culinaria se empleó hasta en la proporción de un 2 por ciento sin obtener el menor impedimento en el desarrollo de los bacilos comiformes.

El sulfato de hierro comienza solo á obrar cuando se le añade en la proporción del 2 por ciento. Muy especialmente al tratar de esta sustancia que en tiempos de cólera tiene un uso muy extenso como desinfectante, quisiera recordar que la proporción del 2 por ciento es apenas el límite que impide el desarrollo. En esta concentración, el sulfato de hierro no es todavía capaz de matar á los bacilos comiformes. La propiedad retardante del sulfato de hierro depende probablemente de que en el licor alimenticio precipita la peptona y los albumina-

tos, pues añadiendo á dicho licor el sulfato en la proporción del 2 por ciento, se forma un precipitado abundante. Posible es, que tambien influya además la reacción ácida á que da lugar esta combinación. Parece por lo expuesto que dicha sustancia no posee acción específica alguna, y que no puede considerarse como tóxico ó desinfectante propiamente dicho. Casi creo probable que con dicha sustancia se logre un efecto enteramente contrario al que uno se propone. Pongamos el caso de que se trata de desinfectar un inodoro en el que se supone que han penetrado los bacilos comiformes. Segun mi parecer basta ya el proceso de corrupción que allí se verifica para matar á los bacilos. Pero si se añade sulfato de hierro hasta reacción ácida y se interrumpe con esto la putrefacción, no se logrará entonces otra cosa sino suspender el crecimiento de las bacterias y de los bacilos comiformes. Téngase presente que no por eso quedarán muertas las bacterias, y en cuanto á los bacilos comiformes se les librá del influjo para ellos pernicioso de las bacterias de putrefacción, y se les conservará así, en vez de destruirlos.

Este ejemplo es muy propio para demostrar que precisamente bajo este punto de vista es necesario probar y examinar de un modo adecuado los desinfectantes, y que es necesario distinguir lo que es simplemente retardante y lo que verdaderamente mata las bacterias. Lo primero puede con mucha probabilidad favorecer precisamente la conservación de los virus.

De las demás sustancias me concretaré á indicar los límites de su efecto retardante. Alumbre 1 á 100, alcanfor 1 : 300. Atribuía al alcanfor una acción más poderosa, pero varios experimentos hechos con mucho cuidado me demostraron que no tiene sino muy poca acción sobre los bacilos comiformes. Acido fénico 1 : 400. Esta proporción concuerda poco más ó menos con lo que ya se sabe sobre la acción de ácido sobre otras bacterias. Esencia de menta piperita 1 : 2000. Sulfato de cobre 1 : 2500. Es ya notable la acción de esta sustancia. Pero si se pusiera uno á calcular cuánto sulfato de cobre hay que administrar únicamente para impedir nada más que el desarrollo de los bacilos en el intestino, se obtendrían cantidades que ya no es posible administrar á un ser humano. Quinina 1:5000, y por último el sublimado, que también en esta ocasión acentúa su superioridad sobre las demás sustancias. 1 : 100,000.

En el trascurso de los experimentos sobre la influencia de los remedios represivos contra el desarrollo, resultó el hecho remarcable de que los bacilos de coma se mueren muy fácilmente cuando se secan.

Las pruebas se hacen del modo siguiente: encima de un vidrio cubre-objetos se deja una gotita mínima de sustancia que contenga bacilos, es decir, se prepara una sola vez para una serie de experimentos una cantidad considerable de vidritos iguales; encima de éstos se pone después una gota del líquido que se quiere examinar y se deja desarrollar en el vidrio hueco que sirve de porta-objetos.

Cuando se opera de esta manera, en ninguno de los preparados hubo crecimiento; pero lo que me chocó más fué, que tambien en los preparados reservados por el controle no habia crecimiento alguno, sin embargo de que habian recibido puro caldo por líquido nutritivo.

No pude imaginarme desde luego cual fué la causa por la que no hubo crecimiento, y me imaginé primero que el caldo pudiera tener la culpa, porque nunca me habia sucedido igual cosa en los experimentos hechos con otras bacterias. Por ejemplo, los bacilos de la pústula maligna se pueden reservar bastante tiempo en estado seco encima de los cubre-objetos, permaneciendo vivos media y hasta una semana entera en este estado. Pero cuando el caldo se reconoció que era bueno, se debió tambien examinar si los bacilos de coma no habian muerto por haberse secado en los cubre-objetos.

Para averiguar esto se hizo la prueba siguiente: en una determinada cantidad de vidritos se depositó una gotita de sustancia que contenia bacilos. La gotita se secó en pocos minutos. Despues se añadió una gota de caldo en un preparado despues de un cuarto de hora, otra despues de media hora, otra despues de una, etc., etc. Entonces se averiguó y probó por varias series de experimentos que los bacilos de coma pueden volverse á desarrollar en los preparados del cuarto de hora, de media hora y tambien de una hora, aunque algunas veces murieron despues de haber quedado secos durante dos horas. Ninguno llegó á tres horas. Solamente cuando se

secaron masas compactas de cultivos de bacilos, por ejemplo, en la sustancia pulposa de un cultivo crecido en papas, los bacilos quedaban vivos, debiéndose este resultado á que no se pudieron secar completamente. En estas circunstancias nunca fué posible conservar los bacilos más que unas 25 horas sin mojarlos.

Este resultado era importante en primera línea, porque con ayuda de él se pudo examinar si las bacterias tienen un estado de duracion.

Sabemos que otras bacterias patogénicas, como las bacterias de la pústula maligna, que forman esporos, quedan en este estado de duración por años, secados con un vidrio semejante, sin que pierdan su vitalidad. Igualmente en otras sustancias infecciosas, de las cuales no conocemos bien la naturaleza, como por ejemplo, de la viruela y de la vacuna, sabemos que pueden quedar por muchos años secas y al mismo tiempo infeccionables. En estos casos se trata de verdaderos estados de duración. Si los bacilos de coma, que tan pronto se mueren cuando se secan, se pueden transformar bajo cualesquiera circunstancias en un estado de duración, esto se debería demostrar fácilmente secándolas. Es una de las cuestiones más importantes para la etiología de una enfermedad infecciosa y principalmente para el cólera. Por esta razon las investigaciones en este respecto se hicieron con toda escrupulosidad posible en todos sentidos, y creo difícil que en este respecto sea posible hacer más.

En primer lugar se dejaron las deyecciones de cólera

y el contenido intestinal de cadáveres de cólera encima de lienzos mojados para que los bacilos de coma se pudieran desarrollar bajo las condiciones mas favorables. Despues de diferentes intervalos se secaron pedazos de lienzo, es decir, despues de veinticuatro horas, de algunos dias, de algunas semanas, para ver si despues de este tiempo no se había establecido de algun modo un estado de duración. La infección del cólera por ropa súa nos presta el único ejemplo claro de la existencia de una sustancia infecciosa eficaz, que se pega á ciertas cosas. Si existiera un estado de duración, se debería buscar en la ropa súa del cólera.

Pero en todas estas pruebas nunca se pudo conocer un estado de duracion. Cuando se examinaron los objetos secados, se vió que los bacilos de coma estaban muertos. Mientras, se pusieron las deyecciones en la tierra mezclándoles con ella, ó extendiéndoles sobre la superficie, que se mantenía en un estado seco ó húmedo. Se mezclaron con agua de pantanos, tambien se entregaron á la descomposición sin añadir nada. En cultivos de gelatina los bacilos de coma se cultivaron por seis semanas; lo mismo en suero de sangre, en leche, en papas, donde los bacilos de la pústula maligna, como se sabe, forman sus esporos muy rápidamente y en abundancia. Pero los bacilos de coma nunca presentaron un estado de duración, este resultado debe parecer tanto más extraño cuando sabemos que los demás bacilos lo tienen. Pero aquí yo tengo que recordar esto, que ya

dije antes, que aquí muy probablemente se trata de un microorganismo, que no es un bacilo verdadero, pero que pertenece con más razón al grupo de las bacterias espirales, que se llaman los espirilos. De éstos no conocemos ningunas formas que tengan un estado de duración.

Los espirilos son bacterias que dependen únicamente de líquidos y que no están vegetando como los bacilos de carbunculosis, en circunstancias donde tienen que aguantar también un período seco. Por esta razón—según mis experiencias—me parece por demás buscar un estado de duración en los bacilos de coma. Más tarde tendré ocasión de explicar que la ausencia de un estado de duración está enteramente conforme con las experiencias sobre la etiología del cólera.

Si juntamos todas estas calidades de los bacilos de coma hasta ahora descritos, nos convenceremos que ellos pertenecen á un bien caracterizado género de bacterias que se conocen y se diferencian fácilmente de otro género también característico por sus calidades.

Después de haberse persuadido de esto, era necesario en primer lugar fijar en la relación en que están los bacilos de coma con el verdadero proceso del cólera, y debe examinarse por de pronto si se encuentran en todos los casos de cólera y si faltan en algunos otros casos que no sean cólera, es decir, si pertenecen exclusivamente á esta enfermedad. Bajo este respecto se examinó un gran número de casos. En Egipto, diez casos se presentaron

á este exámen. Debo decir que estos diez fueron observados solamente con el microscopio, porque las calidades que presentan los bacilos de coma cuando crecen en la gelatina nutritiva todavía no me eran bastante conocidos para aplicar ese método para la demostración de ellos. Por escrupulosos exámenes microscópicos me persuadí, que en todos estos casos existían bacilos de coma. En India se examinaron cuarenta y dos casos no solamente por el microscópio, sino tambien por cultivos en la gelatina nutritiva, y en ninguno de ellos faltaron los bacilos. En una série de casos muy agudos se encontró en el intestino un cultivo casi especial de bacilos de coma cuando se examinaron del mismo modo en India las deyecciones de treinta y dos enfermos de cólera, y siempre se descubrieron en ellas los bacilos de coma.

Igualmente se examinaron con frecuencia los líquidos vomitados por enfermos de cólera. Pero solamente en dos ocasiones se encontraron los bacilos de coma en dichos vómitos, y la calidad del vómito hizo conocer que no era el verdadero contenido del estómago, sino del intestino, que por la presión abdominal fué impelido por arriba y se evacuó por el exófago. La reacción del líquido era alcalina y tenía enteramente el aspecto del contenido del intestino. Yo encontré los bacilos de coma tambien en los preparados de otras ocho autopsias que recibí, parte mandadas de la India y parte de Alexandría, del Dr. Kartulis y del Dr. Schiess-Bey. Hice últimamente dos autopsias junto con el Dr. Strauss y el Dr. Roux en

Tolon, y se probó la existencia de los bacilos de coma con las deyecciones de los enfermos.

En las autopsias ejecutadas en Tolon se trataba de casos que eran en su marcha muy característicos y muy agudos. Uno de los individuos, un marinero, debía salir ya convaleciente de Malaria el mismo día del hospital. Pero antes que esto se realizara, á las once de la mañana se enfermó de cólera, en la tarde á las tres se murió, y á las tres y media se pudo disecar el cadáver. Aquí quiero agregar que casi en todos los otros casos que yo examiné, las autopsias se hicieron muy poco tiempo después de la muerte. Muchas veces hicimos la autopsia inmediatamente después de la muerte, en los demás á las dos ó tres horas después, así es que la putridez post mortal no pudo haber alterado el estado del intestino y de su contenido. En la citada autopsia nos pudimos persuadir, como en un número de autopsias anteriores, que en los casos muy agudos casi existe un cultivo especial de los bacilos de coma.

Pude demostrar este hecho á los Sres. Dr. Strauss y Dr. Roux, los cuales hasta entonces no habían logrado todavía demostrar la existencia de los bacilos de coma ni por el microscopio ni por el cultivo en suero nutritivo. Esos señores habían sido siempre de opinión, según me dijo el Sr. Dr. Strauss, que se necesitaba cierta finura y destreza respecto de la preparación, para atender y cultivar los bacilos de coma. Después se convencieron que nada es más fácil que esto cuando solamente se trata de

un caso agudo, claro y sin complicacion. En la segunda autopsia, de la cual fuí testigo en Tolon, los bacilos de coma se encontraron en el intestino casi en cultivo especial. Entonces yo pedi al Sr. Dr. Strauss me enseñara en esta ocasion los microbios, que segun él se encuentran en la sangre del cólera. Pero en los dos casos pudo descubrirse su existencia. Si sumamos todos estos casos, entonces tendremos cien que se examinaron para investigar la presencia de bacilos de coma, y en todos ellos se encontraron. Pero no solamente se demostró que existian, sino que se hizo ver la relación directa que tienen con el proceso de cólera. Porque en los puntos donde este proceso provoca las alteraciones más profundas en el intestino, es decir, en el segmento interior de yeyuno, se encontraron más numerosas; hácia arriba disminuyeron. En casos más especiales se presentó un cultivo especial. Pero mientras más antiguos eran los casos y más alteraciones secundarias presentaban, más se ocultaron los bacilos de coma atras de estas últimas.

Fundándome en el material del cólera que yo he examinado hasta ahora, creo que puede afirmarse que los bacilos de coma nunca faltan en el cólera, que son un atributo específico de el. Para hacer la prueba, se examinaron igualmente otros muchos cadáveres, deyecciones de enfermos y sanos y otras sustancias que son ricas en bacterias, para saber si acaso estos bacilos, que nunca faltan en el cólera, existen tambien en otras enfermedades. Esto era de importancia para juzgar sobre la cone-

xión causal entre los bacilos de coma y el cólera. Entre estos objetos de exámen se encontró el cadáver de un hombre que habia tenido cólera hacia seis semanas, y que se habia muerto despues de anemia. En su intestino no se encontró nada absolutamente de bacilos de coma. Del mismo modo se examinó la deyeccion de un hombre que habia tenido un ataque de cólera hacia siete ú ocho dias y donde las evacuaciones ya comenzaban á solidificarse; tambien en este caso faltaron los bacilos de coma. Cuando examiné escrupulosamente más de treinta cadáveres, me convencí de que los bacilos se encuentran solamente en enfermos de cólera. Se escogieron para este exámen cadáveres de individuos que habian fallecido de afecciones del intestino, como disenteria y catarros intestinales, que son tan frecuentes en las regiones tropicales, de ulceraciones en el intestino, de tifo abdominal, y algunos de tifo bilioso. En esta última enfermedad las alteraciones en el intestino se parecen mucho por su aspecto á aquellas que se encuentran en los casos de cólera, combinados con graves hemorragias intestinales. En el segmento inferior del yeyuno tambien se observan infiltraciones hemorrágicas; pero hay que notar que en el tifo bilioso esa alteracion ataca más bien á las placas de Peyer y se alteran menos en el cólera. En todos aquellos casos en donde se trata principalmente de afecciones intestinales, nunca se encuentran los bacilos de coma.

La experiencia demuestra que esas enfermedades predisponen para la adquisicion del cólera. Puede suponerse

que si los bacilos de coma se hallaran en otras afecciones morbosas fuera del cólera, se encontrarían con predilección en éstas. Se han examinado un gran número de las evacuaciones de los enfermos de disenteria, sin que se haya encontrado un solo bacilo. En las investigaciones que he continuado despues en Berlin, junto con el infatigable Dr. Stahl, tan apto para el exámen de las bacterias, y cuya temprana muerte lamentamos, hemos experimentado gran número de evacuaciones, especialmente de diarreas infantiles y de adultos, así como la saliva y la mucosidad, rica de bacterias, que se encuentra pegada á los dientes y á la lengua; pero siempre el resultado fué negativo.

Tambien se examinaron diversos animales en este sentido. Como por el envenenamiento del arsénico se puede provocar un conjunto de síntomas muy semejantes á los del cólera, se envenenaron animales con arsénico y se observaron despues. Se encontraron cantidades de bacterias en el intestino, pero ningunos bacilos de coma. Tampoco éstos se hallaron en las corrientes de los canales desaguadores de la ciudad de Calcutta, ni en el agua sumamente súa del rio Hugthli, en una cantidad de estanques que están colocados en los ranchos y entre los jacales de los indios, conteniendo un agua muy sucia. Donde pude apoderarme de un líquido rico de bacterias lo examiné para buscar la presencia de bacilos de coma pero nunca se encontraron dentro de ellos. Solo una vez hallé en el agua, que en tiempo de marea inunda

el terreno al Oriente de Calcuta, que lleva por nombre terreno del «Lago Salado,» un género de bacterias que tienen á primera vista cierta semejanza con los bacilos del cólera; pero examinándolos más atentamente se notó que eran más grandes y gruesos que aquellos y que sus cultivos no liquidaban la gelatina.

Aunque por todas esas observaciones tengo por mis estudios anteriores tanta experiencia sobre las bacterias, en todos mis trabajos no pude recordar haber visto una vez bacterias que se pareciesen á los bacilos de coma. He hablado con muchos que han cultivado bacterias en grande escala y que tienen tambien experiencia en este sentido; pero todos me declararon que todavía no han visto semejante género de bacterias. Por estas razones creo que yo me puedo permitir afirmar con certidumbre que los bacilos de coma acompañan constantemente al proceso del cólera, y que no existe en ninguna otra afeccion mórbosa.» (*)

(*) No hemos querido alterar en lo más mínimo la traducción del Doctor Bellow.





CAPÍTULO II.

IDEAS DE CONTROVERSA. — FINKLER Y PRIOR. — EMMERICH. — DENEKE.
— LEWIS. — OBSERVACIONES VARIAS. — CÁNON BACTERIOLÓGICO.

DESPUES de dar á conocer Koch el bacilo-coma, y explicar todas sus particularidades bacteriológicas, no tardaron en salir á la palestra algunos observadores intentando manifestar, que existían bacilos iguales al por él descrito, no solo en otras enfermedades, sino que tambien se hallaban en la saliva en gran cantidad, como igualmente en el agua de los estanques; otros bacteriólogos fueron mas allá, y negaron al bacilo-coma su valor patogenético, fundando sus apreciaciones en haber reconocido ya en la sangre, ya en los órganos otra clase de bacterias completamente distintas

en su forma, y en su evolución, que eran las verdaderas generadoras del cólera asiático, sin que para nada tuviesen que intervenir los bacilos descritos por Koch.

Estos diversos observadores hicieron como es consiguiente ruido en el mundo científico, pues el momento era propicio para hacer vacilar la opinión médica de suyo asaz escéptica, y por demás incrédula al tratarse de hechos trascendentales que resuelvan algun problema, y causen una revolución en las ideas dominantes; sin embargo no tardó en conocerse la falta de debida preparación técnica en algunos impugnadores al verse que no tenían en cuenta la mas capital condición bacteriológica al tratar de las formas, pues aparentaban desconocer, que no siendo la forma el carácter diferencial de las bacterias, por que puede variar y en efecto varia segun sea el medio nutritivo, segun se observe en diversos periodos de su evolución, y segun las condiciones que sobre ellas actúen ya de temperatura, ya de humedad, de luz y en una palabra de todo cuanto directa é indirectamente puede producir en ellas algun cambio, teniendo como es imprescindible tener esto en consideración, es de todo punto preciso diferenciarlas por la manera especial que tengan de evolucionar en los diversos medios de cultura, presentando modalidades típicas que permiten reconocerlas en el acto, haciéndose una distinción que no puede en manera alguna acarrear la confusión entre las diversas especies, y asi vemos que formas casi iguales, observadas al microscópio, donde á primera vista se nos

presentan con una identidad que hace imposible su diferenciación, vienen á distinguirse perfectamente por sus propiedades mas ó menos acentuadas, ú opuestas, y así una líquida por ejemplo, la gelatina, mientras otra no tiene esa propiedad y la deja intacta; una verifica la liquidación adoptando una forma dada, mientras la otra la presenta distinta, una lo hace con rapidez fundiendo el tubo de gelatina, y la otra lo verifica con lentitud; una da una coloración de que otra carece; esta se desarrolla en tal medio, y la otra no evoluciona en el, y así de esta manera, por medio de estas condiciones evolutivas se ha llegado á distinguir bacterias, que parecían semejantes observadas solamente con el microscópio: y esto sin contar con las principales condiciones de acción patógena del mas capital interés en su diferenciación.

Algunos otros impugnadores desconocían al parecer, los procedimientos indispensables para obtener culturas puras, y no estaban muy connaturalizados con el estudio de lo infinitamente pequeño, y de aquí surgía necesariamente que vieran bacterias donde no había mas que impurezas, ó partículas de sustancias colorantes, y supusieran la existencia de microorganismos en partes, ú órganos en que no podían tener su asiento, y que cuando por escepción se apreciase su presencia fuera incontestablemente debida á la contaminación ó alteraciones indispensables *post mortem*.

De estas ideas de controversia resultó un extraordinario periodo demostrativo, y de estudio sério y profun-

do, empezando por someter á prueba, y tomar en consideración los argumentos que llovian de todas partes, para irlos pasando por el crisol científico-esperimental: de esta manera es como las ideas del sábio aleman resaltan mas y mas, pudiéndose decir muy alto y con toda verdad, que si ha triunfado de todos sus impugnadores y decididos adversarios no ha sido en verdad debido al entusiasmo y fé con que en algunas ocasiones se aceptan las ideas de los grandes hombres, sino á la demostración científica, de todas y cada una de sus aserciones; de todos y cada uno de sus hechos experimentales; hechos que no han podido desconocerse, y que han testificado la verdad de su doctrina.

FINKLER Y PRIOR.

Con gran expectación y natural interés recibió el congreso de sábios Alemanes el año 84 una comunicación de Finkler y Prior en la que se anunciaba el descubrimiento en algunos casos de *Cólera Nostras*, de una bacteria en un todo semejante con la encontrada por Koch en el cólera asiático; igualdad demostrada de una manera categórica, y probada no solo en la forma encontrada, sino que tambien había sido reconocida en las deyecciones del cólera esporádico como en el asiático por Koch, y de igual

manera evolucionaba en los diversos medios de cultura, y en particular en la gelatina, donde en las colonias, y por el modo de liquidar el medio se comprobaba la identidad.

Considérese cuál no sería la importancia de esta comunicación y cuál su resonancia, cuando envolvía problemas de tan palpitante interés, dada la analogía que existe entre el cólera asiático y el esporádico; fácil es comprender el efecto que produciría el resultado de los estudios de Finkler y Prior, cuando en último término venía á hechar por tierra todo lo sostenido por el eminente bacteriólogo de Berlin, al asegurar que su bacterio sólo podía ser encontrado en el cólera asiático, con todas las conclusiones conocidas; se presentaba la duda ante un caso de cólera, que la presencia del bacterio no podía establecer diferencia entre el asiático y el esporádico, y ya sin dato preciso de distinción, se quedaba en el mismo punto de ignorancia en que permanecía la ciencia antes de los estudios de Koch, y por consecuencia el edificio construido por éste se venía al suelo con estrépito.

Roberto Koch empezó un serio y paciente estudio con la bacteria encontrada en el cólera esporádico, y como él, varios otros experimentadores deseosos de comprobar los hechos y resolver el grave problema que tenían delante.

Koch lo primero que observó era que el cultivo sometido á examen estaba impuro, y en efecto separó de él bacilos rectos y algo alargados que tenían la propiedad

de liquidar la gelatina, y que se desarrollaban en la superficie del cultivo; bacilos rectos y cortos que no poseían el poder de liquidación; bacterias cromógenas que daban por expansión una coloración verde al tubo de cultura, y que tampoco liquidaban la gelatina; y mezclada con estos microorganismos la bacteria encorvada á que harían referencia Finkler y Prior.

De los completos trabajos ejecutados con esta bacteria, se ha llegado á este innegable resultado práctico: los cultivos de las dos bacterias, la de Koch, y la de Finkler y Prior, en los diversos medios nutritivos, no pueden jamás confundirse, hay diferencias tan notables, tan claras y precisas como veremos enseguida, que permiten distinguirlas en el acto; la inoculación no ha dado el resultado que forzosamente tenía que esperarse; y por último, en muchos casos de cólera nostras, cuyas deposiciones han sido sometidas á riguroso exámen por experimentados observadores no se ha podido encontrar la bacteria de Finkler y Prior.

La cultura pura que nosotros teníamos en el laboratorio llevada de Berlin por mi distinguido amigo el Dr. Susini, nos sirvió para hacer un completo estudio, en las constantes y repetidas séries que habíamos de seguir para conservar la cultura en perfectas condiciones evolutivas, y ella ha confirmado plenamente y sin discrepancia alguna las observaciones de los bacteriólogos.

CULTURA EN TUBOS DE GELATINA.—La impresión en la cultura de gelatina por punción, que principia por una especie de nebulosidad ó coloración lactescente, no tarda en presentar el aspecto granugiento y su forma típica de embudo alargado con el pico dirigido hácia el fondo del tubo, figura representativa de la zona que corresponde á la gelatina líquida; desde el tercero al quinto dia la porción liquidada de la base que forma el embudo, toca ya á sus paredes, aumentando la liquidación, y acortándose con rapidez la distancia al pico del embudo, al cual llega por lo general de los diez á los doce dias, para presentar entonces el tubo de cultura este aspecto; en el fondo y como en su tercera parte la gelatina por liquidar con su coloración topacio claro y trasparente; encima una linea ó capa blancuzca granugienta ó grumosa más propiamente, que constituye la informe colonia donde se encuentran los bacilos; y desde este punto hasta la superficie, la gelatina liquidada de un color ceniza claro que presenta en la parte superior una especie de película, que se resquebraja con facilidad, algo trasparente y donde se encuentran tambien las bacterias encorvadas.

Esta rapidísima evolución no puede de ninguna manera confundirse con la del coma de Koch, que luego describiremos, ella es mas lenta por tardar más tiempo en liquidar la gelatina, la forma de su zona es comple-

tamente distinta, y hasta en la base del embudo donde se pretendió encontrar una analogía, es imposible el confundir las dos culturas: la de Finkler y Prior presenta una base mucho mas ancha que la de Koch, y por la coloración, y por el ensanchamiento rápido del trayecto de punción, y otras varias modalidades, hace que en cualquier periodo de su evolución pueda diferenciarse de una manera exacta y precisa.

PLACAS.—En las placas de gelatina es donde tambien á simple vista se pueden distinguir las colonias de los dos bacterios con toda seguridad: mientras en el bacilo de Koch son de contornos irregulares, en el de Finkler y Prior se ven limitadas por contornos perfectamente regulares y oscuros, aunque de aspecto granugiento: el modo rápido de liquidar la placa es característico, y en muchas ocasiones se hace imposible la observación por su rapidez evolutiva, por que colocadas las placas á una temperatura de 19 centígrados en muchos casos en menos de cuarenta y ocho horas se ha operado la completa liquidación del medio de cultura, y eso que de antemano lo teníamos en cuenta para sembrar el cultivo con la menor porción posible de bacterias.

Al examinar con el microscópio la colonia redonda orlada de un círculo algo oscuro, aunque su aspecto sea granugiento, ya sabemos con plena seguridad que no se puede tratar de una colonia de bacilo-coma, pues el ca-

rácter típico de esta es la irregularidad de sus contornos que se presentan como dentellados, á pequeños girones.

CALDO.—Aun cuando no sea en este medio de cultivo muy notable la diferencia entre los comas, no por eso deja de presentar un aspecto que bien reconocido y controlando las dos culturas, permite distinguir las: Cultivado el coma de Finkler y Prior en caldo nutritivo, se ve que antes de las 24 horas ya ha formado una costra blanquecina en la superficie donde pululan las bacterias película mucho mas resistente que la del bacilo-coma, y de mas blanca coloración: además esta película se adhiere á las paredes de la botellita de Erlenmeyer como si estuviese soldada á ella, y no tarda en tomar un aspecto arrugado que hasta ahora jamás hemos apreciado en el bacilo de Koch, donde la película ni es tan resistente, ni tiene tan acentuada la coloración, ni se pega á las paredes de la botellita, ni por último, aparece con tanta prontitud en el cultivo.

EXAMEN MICROSCÓPICO.—Aun cuando ya hemos dicho que la forma no constituye su carácter diferencial, sin embargo examinada la bacteria con el microscópio, lo primero que se echa de ver, es el mayor tamaño de la de Finkler y Prior, notándose una bacteria mas larga y mas gruesa.

Su forma es ciertamente encorvada como la de Koch, pero en cambio no se ven la SS frecuentes del bacilo-coma, esos ganchos tan comunes y esas vueltas caprichosas.

Examinando con toda detención el bacilo de Finkler y Prior, se nota la desigualdad de la bacteria, porque el cuerpo es mas grueso que sus estremidades, y estas parecen como si estuvieran afiladas y terminan en punta, carácter que no puede apreciarse en el bacilo-coma de Koch.

La evolución del bacilo de Finkler y Prior ha sido comprobada por Koch y Van-Ermengen con su ciclo distintivo, ciclo que ha sido corroborado por nosotros frecuentemente en el laboratorio.

Este completo triunfo de la doctrina de Koch, invalidando los estudios de Finkler y Prior, que no han hecho sino poner de manifiesto la verdad de las exactas apreciaciones del sábio bacteriólogo aleman, repercutió en el mundo científico llevando el convencimiento de la verdad, y destacando la figura de Koch por la precisión de sus observaciones y por la certeza de sus juicios.

EMMERICH.

En el mes de Diciembre del año 84 el Dr. Emmerich de Munich comunicó á la sociedad de medicina, que

después de prolijas investigaciones, cree haber encontrado el verdadero bacterio que produce el cólera morbo asiático, bacterio completamente distinto del observado por Koch, no solamente en cuanto á la forma y á su evolución en los medios diversos de cultivo, sino que tambien en cuanto á sus localizaciones, como había tenido ocasión de comprobar en Nápoles, donde en *veinte y cuatro casos observados habia descubierto el bacterio en cuestión tres veces.*

Este micro-organismo segun Emmerich, se encuentra en la sangre, hígado, bazo, riñones y principales órganos de los coléricos y tiene la forma de un pequeño cilindro recto con sus estremidades redondeadas, y con un notable parecido al bacilo de la difteria.

Manifestaba además el bacteriologo de Munich como complemento decisivo á sus investigaciones, que habia practicado inoculaciones en chanchitos de la India con completo y satisfactorio resultado pues los síntomas experimentales eran iguales que los observados en el cólera.

El procedimiento de cultura seguido por Emmerich, consistía simplemente en colocar pedazos de órganos, ó una cantidad de sangre en los tubos de gelatina, y en caldo; y esperar el desarrollo de las colonias del bacterio: no usaba el procedimiento de placas tan indispensable para obtener culturas puras, y por consiguiente las inoculaciones que practicase carecerían lógicamente de toda verdad.

Como es fácil suponer, enseguida se combatió teórica

y experimentalmente la aserción de Emmerich, que no pudo bajo ningun concepto prevalecer, por faltarle la base de cimentación que requiere toda deducción experimental; escrupulosidad en los procedimientos, y oportunidad en el exámen: así que las principales razones que se oponian á la investigación de Emmerich, fueron condensadas claramente por Flügge y Van-Ermengen en un trabajo crítico cuyas conclusiones eran en definitiva que no habiéndose seguido la técnica bacteriológica de rigor en estos trabajos, las culturas de Emmerich necesariamente habian de ser impuras: que operándose como operaba el investigador de Munich después de las *tres á catorce* horas del fallecimiento del colérico, los órganos estaban ya con la invasión bacteriana que se observa casi siempre en este periodo: invasión de micro-organismos que *post mortem* penetran por los capilares hasta llegar á los principales órganos, para en último termino operar la descomposición y combustión resultante.

El bacilo de Emmerich concuerda perfectamente con los bacterios comunes encontrados en los cadáveres, como tambien se observa en las placas de gelatina que han estado sometidas por algun tiempo á la accion del aire de la atmósfera: estos bacterios cuando se les inocula á los chanchitos de la India, producen síntomas parecidos á los observados por el médico de Munich, pero no es el síndrome experimental del cólera asiático, sino sencillamente una infección que dá origen á la hipotermia y á la muerte finalmente.

Durante la epidemia del cólera en Buenos Aires el 86 y 87, tuvimos la curiosidad de someter á prueba los estudios de Emmerich para saber á qué atenernos respecto á este punto, y practicamos varias culturas con pedazos de órganos y sangre de coléricos, operando á las dos horas próximamente del fallecimiento, y no pudimos encontrar ese micro-organismo en cuestión, aunque hicimos numerosas placas de gelatina y agar-agar: visto el resultado negativo de nuestro exámen, adoptamos la misma técnica sembrando los tubos de gelatina y el caldo con extremas precauciones de esterilización y rapidez, y no pudimos obtenerlo: en vano coloreamos también la sangre y los órganos, en ningún caso se apreció bacteria alguna, resultado que comprobó los estudios de Flügge y Van-Ermengen, y lo erróneo de las deducciones de Emmerich.

DENECKE.

Este ayudante del Dr. Flügge estudiando los bacterios que tenía el queso viejo enranciado se encontró con un bacilo bastante semejante al descrito por Koch, su forma encorvada, y su modo de liquidar la gelatina, concordaba, y ya fué esto lo bastante para que los impugnadores del bacteriologo alemán trataran de establecer la identidad

para quitarle el papel etiológico en el cólera asiático como ya se había establecido.

Sometido á estudio se vió que el bacilo de Denecke es de menos pronunciada corbadura, algo más largo y más delgado que el de Koch; las formas típicas en SS no se observan en él, y por el contrario se notan los largos y finísimos filamentos.

Las colonias que aparecen en las placas de gelatina, son distintivas, en lugar de presentar la irregularidad y el dentellado de sus bordes, son de contornos perfectamente regulares; y de forma circular.

La evolución sobre tubos de gelatina, tampoco puede en manera alguna confundirse: la liquidación se opera en el bacilo de Denecke con más presteza y sobre todo la forma de la burbuja y la barrita de punción son completamente distintas, el ciclo evolutivo difiere por completo.

Al cultivarlo sobre patatas no se puede conseguir su desarrollo á ninguna temperatura á que sometamos la cultura, mientras el coma-bacilo de Koch, como sabemos evoluciona perfectamente en este medio de cultivo.

Lo hemos cultivado también en caldo, y visto que á las doce horas ya ha formado en la superficie del líquido una película escesivamente resistente y de una coloración blanco-azulada, permaneciendo el líquido sin perder su transparencia: esta película desde las veinticuatro horas está fuertemente adherida á las paredes del vaso y empieza á arrugarse como formando surcos paralelos, que

presentan el aspecto granugiento como si la hubieran espolvoreado con polvos de arroz: la película se sedita en el fondo en masa informe y teniendo por algun tiempo una especie de membranas de regular grosor y consistencia, y conservando su coloración blanco-azulada.

LEWIS.

Este observador de Netley decidido enemigo de las bacterias patógenas, salió á la palestra, negando rotundamente la acción etiológica del coma-bacilo de Koch, por cuanto sin tener que buscarlo en el intestino se le podía encontrar abundantemente en la saliva humana, sin que su presencia diera origen á ninguna perturbación funcional como se pretendía comprobar falsamente: este tenaz adversario de las doctrinas de Koch, sin tener en cuenta más que la forma del bacterio que el veía al microscópio, igual al que Koch describía, publicó intempestivamente en el periódico *The Lancet* sus deficientes observaciones, y en estas mismas por supuesto se afirmaron los que como él, no querían conceder al sábio aleman la verdad de su doctrinas etiológicas:

El Dr. Lewis ha presenciado la pulverización de sus ideas de controversia, de su deficiente estudio de observacion, pues se ve palmariamente, que el bacilo que

tanto abunda en la saliva, no tiene igual corvadura que el de Koch, que las estremidades difieren completamente; además que no evoluciona en la gelatina peptonizada, sin contar con que falla como es consiguiente la inoculación.

Este bacilo encorvado de la saliva ya fué apreciado por Clark en América, quien lo creía ser el productor de la caries dentaria; y más tarde estudiado por Miller quien no consiguió cultivarlo en los medios nutritivos conocidos.

Numerosos ensayos hemos hecho por nuestra parte á fin de obtener el cultivo pero con resultado negativo, en ningun caso hemos obtenido la colonia que nos diera el bacilo encorvado.

Varios otros experimentadores han encontrado en las aguas de los estanques y en la ribera de los rios, bacterios más ó menos encorvados, y con esta sola propiedad de forma han pretendido establecer identidad para negarle á Koch la acción patógena del coma-bacilo en el cólera, afanosos por quitarle la gloria que este estudio le ha valido: la mayoría de estos pseudo-experimentadores eran estraños á los estudios bacteriológicos, y lo prueba el solo hecho de atenerse á la forma más ó menos parecida con el que Koch describía sin que tuvieran en cuenta que como ya hemos dicho, la forma no es carácter distintivo, sino la manera que tengan de evolucionar en los diversos medios nutritivos, y su verdadera influencia patógena.

Las formas encorvadas de las bacterias son frecuentes, unas porque así está determinada su forma morfológica, y otras porque siendo bacilos alargados al faltarles el medio nutritivo entran en su periodo de vejez ó fase de involución y á la par que se engrosan, presentan una mayor ó menor corvadura que no puede engañar á un ojo práctico en esta clase de estudios.

El Dr. Koch ha probado hasta la saciedad la acción etiológica del bacilo-coma en el cólera asiático, y satisfecho los más delicados reparos de sus impugnadores, cumpliendo su programa bacteriológico con la más exacta precisión, y basado en las cuatro condiciones capitales:

1.^a La bacteria tiene que ser encontrada en los líquidos ó tejidos de un hombre, ó animal que haya muerto ó padezca de la enfermedad en cuestion.

2.^a No puede ser encontrada sino en esta enfermedad.

3.^a La bacteria debe aislarse, y por medio del cultivo obtener generaciones iguales de una absoluta pureza.

4.^a Con este cultivo puro se producirá por inoculación á un animal sano, la enfermedad de que procede, y encontrar en su organismo la misma bacteria multiplicada con todos sus caracteres y condiciones especiales.

Como se vé, con este cánon bacteriológico no valen las formas al parecer idénticas pues además de la evolucion, les es preciso pasar por el científico tamiz de la experimentación fisio-patológica.



CAPÍTULO III.

TÉCNICA SEGUIDA, Y MEDIOS DE ESTUDIO EN EL LABORATORIO BACTERIOLÓGICO DE LA ASISTENCIA PÚBLICA DE BUENOS AIRES.

AUN cuando no difieran los medios nutritivos, ni la técnica por nosotros seguida, de los empleados comunmente, creemos oportuno consignar nuestros medios de estudio, para de esta manera evidenciar los resultados obtenidos con toda precisión, y evitar tal vez apreciaciones, ó dudas, que en manera alguna convienen al tratarse de hechos demostrativos.

Hemos tenido oportunidad de ver como difieren las prácticas de esterilización, cuan diversos son los manejos para obtener un mismo resultado, que mientras algunos

lo verifican con inútiles manipulaciones, otros por el contrario lo ejecutan con toda sencillez: hemos apreciado cuanto difieren los medios nutritivos que llevan el mismo nombre, y por ejemplo al tratarse de gelatina nutritiva de Koch, unos ponen mas ó menos cola de pescado, mas ó menos peptona; otros emplean indistintamente carnes diversas, y mientras estos dejan la gelatina un tiempo dado en la estufa, los otros lo varían: y en mucho ha de influir necesariamente la variedad de medio nutritivo y el procedimiento que para su obtención se emplee, para que se consigan resultados, que si bien idénticos en el fondo difieran bastante en sus detalles lo que es importante el conocer con seguridad.

Los medios nutritivos empleados han sido.

MEDIOS LÍQUIDOS.

Entre los medios líquidos hemos dado la preferencia al caldo de carne de vaca, y de gallina, haciendo caso omiso de los demás medios de cultivo en este orden.

CALDO. —Lo preparamos de esta manera: se elije carne magra desprovista de ligamentos y grasitud, y bien disgregada con el doble paso por la trituradora comun, ó pica-

dora de carne se ponen quinientos gramos en mil de agua filtrada por filtro de Chamberlam, y se deja en maceración por veinticuatro horas á una temperatura de 18 á 19 centígrados; separamos por espresión con un lienzo la parte sólida, y el residuo líquido que hayamos obtenido, lo elavamos hasta mil gramos adicionándole la cantidad de agua filtrada necesaria para esto: se pone en una retorta de vidrio á donde se le agregan 5 gramos de cloruro de sodio, y 10 gramos de peptona seca bien diluida; á fin de neutralizar su acidez se alcaliniza con una solución saturada de carbonato de soda, que se vierte gota á gota hasta dejar neutro ó ligeramente alcalino el caldo, y se le coloca por hora y media en la estufa húmeda de Koch á una temperatura de 100 centígrados.

Si despues se comprobara acidez, se alcaliniza de nuevo, llevándolo por media hora á la estufa, para luego filtrarlo cuantas veces sean necesarias hasta obtener un medio trasparente, siendo muy pocas las veces que haya necesidad de recurrir á la adición de una clara de huevo para conseguirlo.

El caldo se coloca en botellitas de Erlemmeyer, tubos de ensayo, y pequeños matraces de Pasteur tapados con algodón, y se esteriliza por tres días consecutivos, sometiéndolo á una temperatura de 100 centígrados por media hora: si despues de trascurridos quince días, el caldo no ha experimentado alteración alguna y si conserva su transparencia, nos servimos de el, en la seguridad de emplear un medio nutritivo líquido, ligeramente alcalino,

y debidamente esterilizado; la cantidad de caldo que ponemos en los recipientes es una tercera parte de su capacidad.

MEDIOS SÓLIDOS.

Son los que mas comunmente empleamos en el laboratorio para poder seguir la evolución de las bacterias con toda precisión; tenemos entre los transparentes.

GELATINA.—La gelatina nutritiva de Koch la obtenemos así:

Dispuesta la carne de vaca de igual manera que para hacer el caldo, y obtenido por espresión el extracto líquido de mil gramos, se le agregan cinco gramos de cloruro de sodio, 10 de peptona seca disuelta previamente, y 100 gramos de cola de pescado que se hace disolver en baño maría á 40 centígrados; si en lugar de gelatina al diez por ciento deseamos tenerla al cinco, lo que muy pocas veces acontece, se agregan solamente cincuenta de cola de pescado.

Se alcaliniza lo mismo que el caldo con solución saturada de carbonato de soda, y si hubiera necesidad por mucha alcalinidad de hacerla neutra se agregan algunas gotas de ácido láctico, para someterla por media

hora á la estufa, y últimamente filtrarla cuantas veces sea necesario hasta obtenerla completamente trasparente.

Se coloca en los tubos de cultivo en cantidad de diez centímetros cúbicos, y bien tapados con el algodón se procede á esterilizar por tres dias como en el caldo; si pasada una semana la gelatina no ha sufrido alteración, la empleamos con seguridad, pero en ningun caso despues de pasados dos meses; conservando el medio nutritivo á una temperatura de 18 á 19 centígrados por lo general.

AGAR-AGAR.—Obtenemos este medio de cultivo muy trasparente aunque no tanto como la gelatina; y hemos podido obviar los defectos que trae consigo la filtración, que como se sabe son desesperantes, con solo hacerlo hervir tres horas seguidas en la estufa, evitando los filtros dobles de agua caliente, y empleando únicamente el filtro comun.

Para preparar el agar-agar se opera de la misma manera que para la gelatina sustituyendo la cola de pescado por veinte gramos de agar-agar; se alcaliniza igual y despues de la filtración como se ha dicho, y de esterilizarlo convenientemente por los tres dias, se dejan enfriar los tubos dándoles una inclinación para obtener una mayor superficie de cultivo, á fin de practicar las rayas, ó tener estensas colonias.

LECHE.—Formamos con la leche un medio sólido y

trasparente, que se obtiene operando igual que para la gelatina, sustituyendo el extracto de carne con la leche, y cuidando de alcalinizar aparte la cola de pescado disuelta en agua para evitar así la coagulación, y siguiendo el procedimiento usual en la cocción, filtración, y modo de esterilizar, poniendo el producto en tubos de ensayo, donde por cultivo en punción, y en placas hemos seguido algunas series importantes en particular de cólera que al presentar formas en principio de degeneración, sufrieron en este medio nutritivo una especie de reversión involutiva al adquirir sus primitivas propiedades.

Este medio nutritivo fué indicado por mi distinguido amigo el Dr. Telemaco Susini, buscando el modo de obtener el desarrollo natural de algunas bacterias, que en la gelatina y demas medios de que disponíamos no lo presentaban típicamente.

PATATAS.—Entre los medios sólidos no transparentes es el que con mas frecuencia empleamos, y las preparamos restregándolas con un cepillo para quitarles toda clase de suciedad, y las sumergimos por una hora en una solución de bicloruro hidrargírico al uno por mil, y últimamente se las pone en la estufa húmeda de Koch á 100 centígrados por espacio de 20 minutos tiempo suficiente para su debida cocción, conservándolas en dobles campanas de vidrio, esterilizadas y que con el papel empapa-

do en solución de bicloruro, proporcionan una atmósfera húmeda para la obtención de colonias.

De igual manera obtenemos las batatas y zanahorias, aun cuando sea mas frecuente reducirlas á papilla y ponerla en botellitas de Erlemmeyer.

MIGA DE PAN.—Este sencillo medio nutritivo del que hacemos algun uso en particular para el cultivo de hongos lo preparamos rallando bien el pan desecado con el que se llena una tercera parte de un frasco de Erlemmeyer, y despues de agregarle el agua suficiente para que se empape la miga, se tapa con algodón y por tres dias sucesivos se esteriliza en la estufa húmeda á 100 centígrados por espacio de media hora.

Si pasados ocho dias el medio nutritivo no ha experimentado alteración, lo empleamos en los cultivos por punción.

TÉCNICA Y MEDIOS DE ESTUDIO.

Como podrá verse por la ligera reseña que precede, no pueden ser mas sencillos nuestros medios y nuestra técnica, sencillez que asegura los resultados obtenidos.

ESTERILIZACIÓN.—Al empezar los trabajos en el laboratorio y de tiempo en tiempo durante ellos, nos

lavamos las manos con soluciones de bicloruro hidrargírico al uno y al dos por mil.

Para la esterilización de laminillas, porta objetos y cámaras microscópicas, las sometemos por 24 horas en solución de ácido fénico al 10 por 100.

Las placas de vidrio, los tubos de cultura tapados con algodón, los frascos, las botellitas de Erlemmeyer, y todos los aparatos de cristalería se ponen por tres horas en la estufa de aire seco á una temperatura de 150 centígrados; y los medios nutritivos y demás á la estufa húmeda de Koch, por el procedimiento de Thilam ya espresado mas adelante:

Las placas se esterilizan en la estufa seca por tres horas, con su caja de cobre, en donde permanecen herméticamente cerradas.

Las agujas de platino, las pinzas, cuchillos, escalpelos y todo objeto metálico se esterilizan á la lámpara, ó llama de las bugías, hasta el blanco.

Para destruir los productos patológicos, y los animales sometidos á la experimentación, se recurre á la cocción por tres horas y mas frecuentemente á la cremación.

Los pisos, mesas y demas del laboratorio se bañan continuamente con solución de sublimado al dos por mil.

MATERIAL DE TRABAJO.—La sala de trabajo de coloreación y microscopia es amplia, y desprovista de corrientes de aire: con un gran filtro de Chamberlam de

24 bugías tenemos la provisión necesaria de agua; dos picos mas de aguas corrientes con sus lavabos; y numerosos depósitos de frascos con agua destilada que se obtiene á voluntad por medio de unos tubos sifones de goma que terminan en cuenta gotas de vidrio, y que se utilizan para preparar las sustancias colorantes.

Numerosos picos de gas de llama incolora de trecho en trecho para tener siempre á mano la esterilización de las agujas y demás.

La sala de culturas, donde se tienen los trípodes para las placas, y los estativos, carece de corrientes de aire, y por esto obtenemos culturas puras, sin tener el inconveniente de la contaminación por las bacterias de la atmosfera tan frecuentes en los laboratorios y que entorpecen como es sabido los trabajos.

En el departamento de culturas, disponemos como es consiguiente de los termostatos de Pasteur, y estufas de Arsonval, con todos los demas aparatos necesarios al cultivo de las bacterias.

El departamento refrigerador lo tenemos provisto de dos grandes depósitos ó heladeras con seis estantes que reciben la influencia del depósito de hielo con el que se gradua la temperatura, y á donde colocamos los cultivos de gelatina, y las placas con sus cámaras.

Disponemos de otro departamento para trabajos al micrótomo, y autopsias de esperimentación con luz y ventilación necesarias.

El departamento experimental es amplio donde se

conservan las jaulas aisladoras, y donde se tiene la profusión de animales con toda higiene y comodidad, pudiéndose observar á la simple inspección al animal sometido á experimentación, y disponiendo de compartimientos adecuados á este objeto.

El local fotográfico estenso y con todos los medios necesarios, recientemente instalado.

La sala de estufas para la esterilización, convenientemente dispuesta, y teniendo á mas de las estufas de Koch, los depósitos de cocción, y todo lo necesario á este objeto.

Nos servimos de microscópios de Reichert con lentes de inversión r^{15} , y r^{20} , y oculares del 1 al 5, y todo el material microscópico anexo; de microscópios de Zeiss con lentes apocromáticas é inmersión, cámaras claras y demas.

Tenemos aparatos fotográficos, pero para mis observaciones sobre este trabajo, me he servido del dibujante del laboratorio, quien con toda precisión y exactitud ha transmitido la imagen y figura de las culturas con una claridad que no nos proporciona la fotografía hasta ahora.

Para los trabajos al micrótopo nos servimos del de Richert, con aparato de refrigeración con el eter, aunque el endurecimiento de los tegidos lo obtengamos con el alcohol y eter como luego diremos.

Ultimamente el Dr. Susini fué encargado para adquirir materiales de estudio, de cuya adquisición es una

garantía su competencia, y que no dudo que la actual instalación del laboratorio será una de las mas importantes en esta ciencia.

CULTURAS.

Dominan en nuestros cultivos las placas de gelatina para cuya obtención procedemos de esta manera: con una aguja de platino doblada en S, previamente esterilizada á la llama del pico de gas, se toma una pequeña porción de un cultivo, ó de una colonia, ó sustancia dada, y se mezcla convenientemente en el tubo de gelatina liquidada á un suave calor; de esta gelatina así sembrada tomamos con la S de la aguja de platino, y lo pasamos á otro tubo de gelatina liquidada con la que se mezcla pacientemente, y lo repetimos por tres veces: de este segundo tubo tomamos igualmente y lo pasamos á un tercero, y de este á un cuarto sucesivamente, pero en lugar de tomar tres porciones con la S de platino, lo hacemos cinco: escusado será advertir que durante el acto de las siembras damos la suficiente inclinación á los tubos para evitar la penetración de los gérmenes del aire en cuanto sea posible.

Dispuesto el tripode con su aparato refrigerador lleno de pequeños pedazos de hielo, colocamos encima de la

lámina de vidrio, la placa esterilizada cubriéndola rápidamente con la campana protectora, y cuando á los dos minutos próximamente observamos que la placa empieza á cubrirse de la ténue capa de condensación, y no despues, por que entonces se corre con facilidad la gelatina, desparramamos el contenido del primer frasco, cerca de los bordes, describiendo una especie de elipse, á fin de que el centro de la placa quede sin gelatina, pues hasta allí no llega el foco del microscópio cuando tratemos de examinarla: esta operación se practica lo mas rápidamente posible y se cubre con la campana, hasta tanto que trascurrido un rato en que la gelatina ya solidificada, se coloca la placa en la cámara húmeda, aislándolas con puentes de vidrio, y sometiéndolas á una temperatura de 18 á 19 centígrados.

Las cámaras de vidrio, las revestimos de papel absorbente empapado en solución de bicloruro hidrargírico para proporcionar la humedad necesaria.

Las culturas por puncion las practicamos tomando con la aguja fina de platino esterilizado una pequeña porción de una colonia pura, *pescada* con la vista al microscópio, se hunde la aguja en el centro del tubo de gelatina, vuelto boca abajo, algunos centímetros, procurando al retirarla que siga el mismo trayecto de entrada, pero con presteza para impedir la acción de los gérmenes del aire: estos tubos tapados con sus algodones esterilizados como es consiguiente, pasan á una atmósfera de 19 á 20 centígrados.

En el agar-agar hacemos el cultivo en rayas con la aguja de platino impregnada con el contenido de una colonia, sometiéndolo á la temperatura deseada.

La siembra en caldo la practicamos, depositando en él una mínima parte de una colonia, ó cultivo, sometiéndolo cerrado á una temperatura de 20 á 30 grados: si deseamos una pronta evolución del bacilo-coma dejamos el frasco destapado para que se forme la película. Para el cultivo en caldo de las cámaras diarréicas usamos el procedimiento de Schottelius, mezclando una tercera parte del material diarréico con el caldo, en la botellita de Erlenmeyer, y á una temperatura de 25 á 30 grados.

El cultivo en patatas lo hacemos, una vez cocido el tubérculo y ya frío, se parte en dos porciones iguales con un cuchillo esterilizado; se deposita en el centro una parte de la colonia ó cultivo, y con un bisturi esterilizado se mezcla con la pulpa raspando suavemente, y dejando su superficie lisa; de igual manera hacemos con la zanahoria: en cámaras húmedas se depositan estos cultivos, y se les tiene con una temperatura de 20 á 25 centígrados.

Los cultivos en de miga de pan y pulpa de batatas, los obtenemos por punción, hundiendo la aguja de platino tres ó cuatro veces, cargada con el material apropiado, y cerrando los frascos con algodón; se les pone á la misma temperatura que á las cámaras húmedas con cultivos de patatas.

COLOREACIONES.

Las sustancias colorantes que hemos empleado para el estudio del bacilo-coma, han sido el violeta de geniana, y violeta de metilo en soluciones acuosas tenues, con las que obtenemos á preferencia los más claros preparados.

Para las cámaras microscópicas húmedas en las que precisábamos observar los movimientos y evolución del bacilo nos bastaba con tomar con la aguja de platino una pequeña porción de la solución colorante y mezclarla al líquido nutritivo de la cámara microscópica y al instante destacaban los comas y las espirales bien teñidos, sin que pudieran escaparse ninguno de sus movimientos ni ninguna de sus particularidades, preferibles á observar sin coloración prévia.

Para la coloreación de preparados sobre laminillas, despues de bien limpias estas, depositamos una pequeña gota de agua filtrada, valiéndonos de la S de platino con cuya aguja tomamos una pequeníssima porcion de una colonia ó cultivo, ó grumo de la deposición colérica y lo estendemos uniformemente mezclándolo con el agua, y asi se deja cubriéndolo con un vidrio de reloj hasta que se seca el preparado; entonces se fija tomando la

laminilla con una pinza y pasándola rápidamente por la llama de la bujía dejando el preparado como es consiguiente por la parte superior para que la llama no actúe sobre él: se pone por dos minutos en la solución colorante, y después de lavado prolijamente con agua filtrada se le coloca en el porta-objeto para observarlo inmediatamente con lente de inmersión; y si deseamos conservar la preparación, se le incluye en bálsamo de Canadá disuelto con xiló para que no ataque á la sustancia colorante.

PREPARACION Y COLOREACION DE CORTES.

—Una vez obtenido el tejido, lo ponemos en alcohol absoluto por espacio de 24 á 48 horas, pasándolo después por igual tiempo á una mezcla de partes iguales de alcohol y eter sulfúrico, y después de obtenerse la dureza deseada, se monta sobre un corcho con una disolución de celoidina la que se endurece con alcohol, pudiéndose ya practicar los cortes con el micrótomo.

Para colorearlos, y siguiendo el procedimiento del Dr. Susini, sometemos el corte á una solución acuosa de violeta de genciana al 5 o/o por espacio de cinco á diez minutos; se decolora con una solución alcohólica de ácido picrico, se lava con alcohol, y se clarifica con aceite de clavo, terminándose la operación con incluirlo en bálsamo de Canadá.

Así de esta manera obtenemos un preparado con fon-

do amarillo donde destacan los bacterios teñidos de violeta: este procedimiento por lo sencillo y por la brevedad de su técnica lo hemos preferido á todos y á él recurrimos en todos los casos generales.





CAPÍTULO IV.

EVOLUCIÓN REGULAR DEL BACILO-COMA SEGUIDA DURANTE UN AÑO
EN BUENOS-AIRES.

EL material de estudio de que nos hemos servido, lo tomamos de las deposiciones coléricas en la casa de aislamiento, durante la epidemia colérica de los años 86 y 87, aunque también disponíamos de culturas puras procedentes del laboratorio de Berlín: pudimos comprobar la identidad del comabacilo que se comportaban de igual manera en los diversos medios de cultivo, y sin notarse diferencia alguna en su observación microscópica.

CARACTÈRES MICROSCÓPICOS.— Los caractères microscópicos del bacilo coma, difieren algo segun lo observemos procedente de las cámaras diarréicas, ó lo tomemos de las diversas culturas, diferencias necesarias al medio en que evoluciona, y á la temperatura á que estén sometidos.

Si coloreamos ana laminilla con el producto de una deyección colérica, encontramos con las clases diversas de bacterias, unos cuerpos delgados y encorvados con sus estremidades redondeadas, que tienen una longitud de una milésima de milímetro, y una tercera parte de grosor aproximativo, y que dominan por su número á las otras bacterias con quienes se encuentran mezcladas: estos organismos encorvados que Koch asemejó á una coma de escritura, son los bacilos-coma, productores del cólera asiático.

Si tomamos una pequeña porcion de un grumo de la deyección colérica, vemos entonces estos comas casi en estado de pureza pues no se aprecian sino bacilos encorvados, por lo que no es aventurado el suponer que los grumos sean masas coloniales del intestino.

Si tomamos de una cultura de gelatina, se observa al bacilo algo más largo, cerca de media milésima más, no tan encorvado como los de las deposiciones, pero presentando muchas SS ó sean bacilos adosados en sentido opuesto: tambien se ven algunas finas espirales que están constituidas por los comas unidos entre si.

En las colonias de las placas de gelatina recién aparecidas se observan los comas poco encorvados y solo por excepción y cuando trascurren muchos días en la placa se ven algunos espirilos entre ellos.

En las culturas en agar-agar se ve el microorganismo más pequeño pero con su forma encorvada y con las SS características, y rara vez espirilas cuando se tiene la cultura á la acción de temperatura elevada.

En los cultivos de caldo nutritivo observamos los bacilos coma más desarrollados, sobresaliendo aquí las espirales á medida que la cultura cuenta más días de fecha.

En las culturas viejas se notan los bacilos con mayor corvadura, algunas veces en forma de herradura, rugosos, con abolladuras, que toman muy imperfectamente la coloración constituyendo las formas degeneradas ó de involución.

En las culturas microscópicas, que preparamos suspendiendo una gota de caldo nutritivo en una laminilla esterilizada, sembrando en ella con un cultivo cualquiera, y coloreando débilmente el medio, en estas preparaciones que se observan con lente de inmersión, se ve el movimiento activo de los comas que suben y bajan con rapidez presentando ora el dorso, ora una estremidad, ó bien todo su plano horizontal; unos que atraviesan el campo del microscópio, otros que chocan al seguir opuestas direcciones; estos que dan vueltas, otros que saltan, y todos animados de un movimiento incesante, y como

si estuviesen regodeándose en el excelente medio nutritivo.

Los adosamientos entorpecen algo su marcha, y como todos los que se observan en 'el campo del microscópio con algo mas de corvadura y de mayor diámetro.

Las espirilas cruzan con un movimiento serpentijnoso y como si rotasen sobre su eje, y al fijarse con detención en ellos se observa, que una larga espiral que se arrastra perezosamente como si le pesara la larga cola que tiene pegada, en el momento en que se separa algun trozo, inicia este un movimiento velocísimo como para desquitarse de la anterior pereza progresiva: estos fragmentos recién disgregados son los comas poco encorvados todavia.

Cuando se examina de igual manera un cultivo ya avanzado, pobre en medio nutritivo, se ven los bacilos engrosados, con movimientos perezosos, y algunos deformados con abolladuras que no lo tienen sino muy limitado ó nulo en la mayoría de casos.

COLONIAS.

Después de haber practicado el cultivo en placas de gelatina, y sometidas á la acción de una temperatura de 19 centígrados, se ve á las veinticuatro horas el princi-

pio de las pequeñas colonias con un aumento de cincuenta diámetros; aparece la colonia como un pequeño punto trasparente y de bastante refringencia, con sus bordes algo regulares y de una coloración topacio claro.

De las 36 á las 48 horas ya presentan algunas modificaciones características; su aspecto es mas opaco, su tamaño mayor, sus contornos desiguales y sin presentar la colonia su forma circular; apreciada la masa de esta, se ve que está constituida por finísimas granulaciones conglomeradas.

Del segundo al tercero dia se oscurece el núcleo, las granulaciones aparecen mas groseras y mal trabadas entre sí, y sobre todo los bordes de la colonia, cuatro veces mayor en su diámetro, aparecen marcadamente irregulares y como si estuviesen dentellados: en esta época de desarrollo ya se ven á simple vista en la superficie de la placa de gelatina unos pequeños puntos que limitan la brillantez de su extensión.

A partir de este periodo y á medida que crecen se ve con el microscópio un aro circular oscuro, que encierra una zona de expansión mas clara y mal limitada que viene á converjer al núcleo central mas opaco, y el todo lleno de granulaciones, unas brillantes, oscuras otras, y dándole el aspecto que Koch indicó, como si estuviese la colonia espolvoreada con finos pedazos de vidrio.

Mirada á simple vista la colonia se echa de ver una pérdida de sustancia en el sitio que ocupa en la placa

de gelatina, ó sea la escavación que en ella ha producido el bacilo-coma al liquidarla, evaporando el agua de aquel sitio.

Al quinto dia, por lo general ya se ha producido la liquidación de la gelatina, viéndose en los puntos ocupados por las colonias, unos espacios de aspecto súcio, mas ó menos extendidos, y que despiden un olor desagradable que no encuentro parecido con que compararlo.

El desarrollo de la colonia esta supeditado á la acción de la temperatura que elevándose de 19 centígrados lo verifica con mas rapidez, así como tambien con el medio nutritivo segun sea este mas ó menos rico, por que en gelatina al 5 por 100 es mas lento que en la usada generalmente al 10.

Coloreando el contenido de una colonia recién formada, se ven los comas poco encorvados y sin espirilas, aunque con algunas SS, y solo en algunos casos á la liquidación de la placa de gelatina se observan algunas formas espirales aunque pocas.

Las colonias que se obtienen en el agar-agar se presentan bajo la forma de pequeñas elevaciones irregulares de un color blanco perla, y las rayas que se practican comunmente en este medio nutritivo, resultan como listas elevadas de bordes irregulares y sinuosos y con su coloración perla algo súcio.

En las papas se presenta bajo la forma de película color amarillo oscuro, de muy poca consistencia, dán-

dole el aspecto como si estuviese revestida de una ténue capa de natilla.

EVOLUCIÓN EN GELATINA.

Los caracteres que imprime el bacilo-coma á la gelatina para liquidarla, son tan notables, tan especiales, que constituyen su mejor modo de diferenciarles: ellos no se presentan reunidos en la evolución de otra bacteria, y su ciclo es tan patognomónico que sin observar al microscópio el contenido de la colonia, se puede afirmar su naturaleza con toda precisión.

Sus caracteres estan comprendidos desde que se hace la punción en la gelatina, hasta que la liquidación ha llegado á la estremidad inferior, es decir hasta que constituye la colonia la especie de diafragma que separa la gelatina liquidada de la que no lo está todavía; durante este periodo evolutivo se aprecian la burbuja característica, la barra ó cilindro que marca el peso de la aguja de punción, y dentro de este cilindro una especie de médula, luego su particular inclinación ó doblamiento, y el modo general en fin, y forma que presenta el tubo de gelatina á la observación.

Cuando se ha practicado por punción una cultura en gelatina, y se la somete á una temperatura de 19 centígrados, hasta las veinte ó veinticuatro horas no se apre-

cia modificación en el tubo, y entonces se ve una ligera pérdida de sustancia en el punto por donde penetró la aguja de platino, cuyo camino se marca por un perceptible enturbiamiento.

Del segundo al tercero día aparece la excavación de la superficie mas pronunciada, viéndose por transparencia en el tubo en el sitio que corresponde á la excavación donde la gelatina está liquidada, una pequeña burbujita trasparente que forma el capitel de la columna enturbia-da, algo mas pronunciada ya: esta burbuja adopta la forma de un embudo con el pico dirigido abajo.

La columna que corresponde al trayecto de la pun-ción parece como si sirviera de estuche á una sarta de pequeñísimos puntos blancos como perlas, y que se ob-servan en su médula ó cuerpo central.

A partir del quinto día se ve mas ancha la excavación de la superficie, y por consecuencia mayor la burbuja aunque conservando la forma primitiva de embudo, la columna un poco mas desarrollada, y su médula central formada por la sarta de pequeños puntitos blancos que se han aproximado mas como si quisieran construir una barrita sin solución de continuidad.

Al octavo ó décimo día la excavación ha ganado en extensión acercándose más á las paredes del tubo; se ve el embudo mas ancho, y la columna que ya parece un largo pico de él, presenta claramente un filamento que desciende hasta el límite inferior de la gelatina liquidada como puede verse en la plancha 1.^a

Del décimo cuarto al décimo quinto día la excavación casi toca las paredes del tubo, y la columna presenta la médula como si estuviera arrollada sobre sí misma; esta importante particularidad ha sido el primero en observarla el Dr. Telémaco Susini en el laboratorio de la asistencia pública de Buenos-Aires.

A partir de este periodo cambia la configuración de la gelatina del tubo, por que al llegar la excavación á sus paredes, desciende rápidamente el líquido buscando su nivel, y desaparece la ampolla, quedando una superficie líquida con un sedimento blancuzco en su plano inferior, y presentando el apéndice de la columna en disposición de formar un gancho por su notable corvatura, disposición que claramente se aprecia en la plancha 1.^a

Desde este momento el acto de la liquidación se opera con mas lentitud, y para descender hasta la punta encorvada y hacerla desaparecer, emplea unos doce días aproximadamente, resultando entonces una superficie líquida con una ligera película blanco-claro, una porción de la gelatina trasparente aunque algo oscura, la capa de sedimentación formada por la colonia en grumos blanco oscuros y la gelatina por liquidar con su transparencia natural, en el fondo del tubo.

Esta es la típica evolución que hemos seguido en muchísimas series, sin que en nada discrepen las unas de las otras, escepción hecha de las que por estar sometidas á una mas baja temperatura tardaban como es con-

siguiente en recorrer su ciclo evolutivo; así es que vemos una duración de veinte y siete á veinte y ocho dias desde el momento de la punción, al instante en que la liquidación ha cubierto la estremidad inferior de la columna.

En la capa de sedimentación es donde se encuentran los bacilos coma, y en estas culturas los hemos conservado vivos por mas de ciento veinte dias aunque en algunas ya deformados por la involución.

EVOLUCIÓN EN CALDO.

Aun cuando no presente esta cultura tan manifiestos caracteres diferenciales, no por eso dejan de ser importantes, no tanto por los cambios que el medio nutritivo experimente, cuanto por que en él es mas rápido el desarrollo del bacilo presentándose las formas espirales que tardan en aparecer en la gelatina.

Sembrado el caldo nutritivo y puesta la botellita de Erlenmeyer á una temperatura de 30 centígrados, si dejamos el cultivo destapado, se observa á las veinte y cuatro horas una lijera película blanquecina donde han colonizado los comas, y habiendo perdido el caldo la transparencia que antes tenía.

A las cuarenta y ocho horas la película es mas con-

sistente y el caldo se presenta completamente turbio, percibiéndose algunos grumos y filamentos depositados en el fondo, y pasados los tres primeros días, la película desaparece por completo, formando el caldo un medio cada vez mas oscuro, que por la sedimentación, aumentando el depósito del fondo, se vuelve á aclarar algo mas tarde.

Si practicada la siembra se tapa el frasco con el algodón, y se le somete á igual temperatura, la película tarda mas en aparecer, no se distingue hasta el segundo ó tercero día, es mas blanca la coloración, y el caldo tarda mas en enturbiarse, formándose al cuarto el depósito de sedimentación de una coloración blanco-parda y no tan grumoso.

En estos cultivos es donde vemos las mas preciosas variedades de espirilos hasta el cuarto ó quinto día, pues á medida que trascurren los días van desapareciendo hasta no encontrarse ni bacilos ni espirilos pasados treinta ó mas: en estas culturas viejas se ven las formas involutivas y las deformaciones del coma, sin que hayamos podido apreciar nunca la menor huella ni traza alguna de esporos, como han pretendido algunos autores: estos bacilos deformados que al tomar imperfectamente la coloración dejan espacios claros que podrían algunas veces hacer pensar en esporos, son completamente estériles.

Estas son nuestras observaciones acerca de la evolución del coma-bacilo, con el que hemos producido como

es natural en los chanchitos de la India el cólera experimental, alcalinizando el tubo digestivo, moderando los movimientos intestinales con la tintura de ópio, y llevando con una sonda gástrica el caldo colérico siguiendo el procedimiento del Dr. Koch.





CAPÍTULO V.

FENÓMENOS EXTRAÑOS EN LAS CULTURAS DE GELATINA.—REVERSIÓN.
—PERIODO DE TRANSICIÓN.

DURANTE un año que sin cesar manejábamos las diversas clases de cultura de coma-bacilo, las veíamos evolucionar matemáticamente digamoslo así, sin notar modificación en ellas y sin que dejaran de presentar los caracteres que le son propios en cualquiera de sus periodos; pero llegó un día que en medio de las numerosas series que diariamente observábamos, llamó nuestra atención vivamente una en tubo de gelatina al 10 0/0, que en lugar de seguir la marcha típica que todas adoptaban, había quedado estacionaria, aunque estuviese sometida á igual temperatura

y tuviera la misma clase de gelatina que las otras y fuese su procedencia la misma.

Estaba rotulada el 13 de Julio de 1887 y su genealogía se remontaba á la cultura en placas de contenido intestinal de un caso de cólera fulminante en Diciembre del 86, cuyo material fué remitido al laboratorio, por la casa de Aislamiento, y cuyas culturas sucesivas presentaban de una manera invariable el ciclo evolutivo que les es característico, y que hemos expuesto más atras.

Separado el tubo de cultura, y puesto á observación, vimos que el trayecto de la aguja de platino estaba ocupado por una sarta de pequeñas esferitas brillantes sin apenas percibirse en la superficie de gelatina más que un pequeñísimo agujero de entrada.

Sin acertar á esplicarnos el fenómeno que teníamos delante, y sin poder abrir juicio no nos atrevimos á destapar el tubo y examinar con el microscópio para saber de lo que se trataba en realidad, y resolvimos seguir la observación y esperar el resultado.

En los tres primeros dias, las esferitas permanecieron de igual manera sin avanzar, lo mismo que el trayecto todo, la forma se conservaba intacta, y lo mismo la brillantez: al cuarto dia se notaban menos esferitas y se veía la union de algunas en forma de caireles, pero sin modificarse el agujero de entrada, y sin haberse ensanchado la barra de puncion.

Al dia sexto nos encontramos con grandes modificaciones en la cultura; las burbujas y caireles habian des-

aparecido del todo, y en su lugar habia quedado una barrita hueca muy brillante que ocupaba todo el espacio central de la gelatina, de un diámetro aproximado de dos milímetros, el orificio de entrada de la punción se habia agrandado al igual diámetro de la barra brillante: esta se veia claramente que no contenía gelatina liquida, sino que era simplemente una pérdida de sustancia, sin que se pudiese apreciar colonia, sino brillantez en toda y cada una de sus partes, como si se hubiera hecho penetrar en el tubo de gelatina una barrita del más puro y trasparente cristal.

Trascurridos que fueron treinta y dos dias, y como la cultura no hubiese progresado sino imperceptiblemente en su mayor diámetro, destapamos el tubo preparando una laminilla y examinada con el microscópio encontramos unos bacilos comas en estado de pureza, pero de mayor diámetro y más gruesos que los típicos, bacilos que tomaban perfectamente bien la coloración violeta de genciana, y sin que notásemos nada que por entonces nos hiciera pensar en forma de involución propiamente dicha.

Tocada una de las paredes de la barrita brillante con la aguja de platino hicimos culturas en gelatina por punción, y en agar-agar lo mismo que en caldo nutritivo.

Los tubos de gelatina presentaron exactamente la misma serie de fenómenos observados en la cultura rotulada 13 de Junio y que hemos descrito, pequeñas esferitas brillantes que tardan en formar los caireles y que des-

pues se trasforman en brillante barra que queda estacionaria.

En el agar-agar las rayas de siembra eran poco gruesas, y no tan elevadas como presentan las formas comunes en este medio: con el microscópio se vió que los bacilos más pequeños tomaban bien la coloración sin apreciarse otra particularidad.

En la cultura en caldo se presentó la película colonial á los tres dias enturbiando el medio: con el microscópio vimos los bacilos mas largos y gruesos de lo ordinario, y lo mismo que los largos espirilos tomaban bien la coloración violeta de genciana.

La cultura primitiva á los 36 dias de observacion tomó un aspecto como si le hubieran barnizado las paredes de la barrita con un color ceniza, revestimiento colonial sin duda: pasados unos dias la gelatina del tubo sufrió un resquebrajamiento produciéndose una hendidura ancha, que partiendo del límite inferior de la barrita descendia hasta el fondo, dejando el medio nutritivo partido por la mitad: toda la superficie de esta hendidura se cubrió de una capa cenicienta análoga á la que antes habia revestido las paredes de la barra brillante.

Examinada esta capa con el microscopio observamos bacilos-comas muy encorvados, más largos y gruesos, que tomaban imperfectamente la coloración; aqui observamos formas de herradura con tendencia á formar círculos.

Las séries instituidas todas adoptaban la forma de

barrita brillante, pero liquidaban con más prontitud que la primera, dejando una colonia pequeña en informe sedimento.

Al tomar de las culturas que habíamos practicado en agar-agar y hacer pases á la gelatina, notábamos en las placas que las colonias no poseían gran poder de liquidación pues conservamos colonias por más de ocho dias con todos sus caractéres típicos; nos propusimos reanimar al coma con frecuentes pases de uno á otro medio pero sin obtener el resultado que buscábamos; teniendo en consideracion que la luz puede ejercer alguna influeucia aunque débil sobre las propiedades de las bacterias, y como conservábamos las culturas en un depósito que carecía de ella empezamos á dejarlas sentir la influencia de este elemento: igualmente teniendo presente la accion del oxígeno, nos aseguramos del estado de los tapones de algodón haciendo que estos no ajustasen demasiado al tubo; preparábamos gelatina cada cinco dias, y tan pronto hacíamos culturas en agar-agar para pasarlas al caldo, como tomábamos de este para obtener colonias en placas, y cultivar en papas, y así creíamos obtener la modificación, y ya desesperábamos de poderlo conseguir cuando al Dr. Susini se le ocurrió preparar otro medio nutritivo haciendo la gelatina leche que hemos descrito mas atras; entonces la cultura practicada en este nuevo medio produjo una especie de reversión, por que el embudo típico, clásico del coma-bacilo apareció en la cultura, y la liquidación fué mas rápida, y aun cuando

los contornos de la liquidación no fuesen muy acentuados á simple vista, ellos eran iguales á las culturas típicas de las séries generales que seguíamos.

Por el microscópio pudimos ver unos bacilos mas regulares que no tenían la acentuación de la corvadura, no se observaban herraduras ni círculos, y sí la forma normal como se presenta el coma.

Instituidas séries en este nuevo medio de cultura nos daban una evolución casi igual que las clásicas; excepción hecha de la menor acentuación de los contornos en la forma de liquidación, y sobre todo en la falta de la especie de médula que hemos visto presentaba el trajecto de punción y que le servia como de estuche y médula que se retorcia y que aquí no se percibe ni la menor traza de ella.

En las primeras colonias que aparecían en las placas hechas con este nuevo medio gelatina leche, nos sorprendió encontrar una gran cantidad de espirilos y pocas comas, como si se tratase de la cultura de espirales solamente.

En estos estudios estábamos ocupados, cuando tubimos necesidad por órden superior, de trasladar el laboratorio á otro local mas vasto y adecuado del que teníamos, siéndonos forzoso suspender las tareas, aunque lamentando la interrupción en momentos tan críticos en que nos disponíamos á llevar la esperimentación á los animales.

Como el nuevo local precisase obras de reparación

indispensables, y como la instalación no se podía hacer, trascurrió un mes sin poder tocar las culturas temerosos de contaminarlas, hasta que por fin pudimos reanudar nuestras tareas, encontrándonos sorprendidos ante los cambios que se presentaban en todo nuestro material colérico y que será objeto de otro capítulo.

Los fenómenos que acabamos de detallar en las culturas de gelatina parece como si fueran el resultado de la involución, pues formas degeneradas no podían por menos de alterar el ciclo evolutivo que siguen las que no lo están: si su poder de acción es menor, sus propiedades por consiguiente menores deben aparecer, y de aquí que liquidasen la gelatina muy imperfectamente, y que su forma fuera si bien igual de mas talla: todo esto supone desde luego una fase primera de degeneración ó involución, pero no podemos aceptar esta idea en atención á los fenómenos subsiguientes, no podían ser formas involutivas, cuando bastó un nuevo medio nutritivo para que experimentasen una especie de reversión, al adoptar la forma del ciclo clásico aunque no muy acentuada: además, en las formas de involución hubiéramos encontrado las abolladuras, las formas esféricas, y todas las modalidades observadas por Nageli y Van-Ermengen, cosa que en ningun caso pudimos apreciar.

En vista de esto nos es forzoso pensar que estábamos en presencia de un periodo de transición entre el estado normal y el involutivo, un periodo intermedio en que el bacilo necesitando mejor medio nutritivo empezaba á

esperimentar la fase inicial de la degeneración, y que una vez atendidas las necesidades asimiladoras, quedaba otra vez con todas sus propiedades fisio-patológicas, pero conservando el sello ó huella que habia dejado impreso aquel estado, y de aquí, como es lo mas probable, la poca acentuación de su modo de obrar en la gelatina.

Sea de ello lo que quiera, es necesario tomarlo en consideración para complementar los periodos del ciclo evolutivo, ó aunque no sea mas que para conocer una de tantas modalidades como pueden presentarse en Bacteriología.





CAPÍTULO VI.

EVOLUCIÓN EXTRAÑA DEL BACILO-COMA.—DIFERENCIAS,

ANTES de describir la estraña evolución que forma el núcleo de este trabajo, conviene dejar sentadas algunas particularidades por si en algo pudieran contribuir á esplicar los fenómenos observados.

Ya hemos dicho que durante la traslación del laboratorio al nuevo local que actualmente ocupa, y mientras se hacían en él las debidas reparaciones de instalación, no fué posible mover el material de estudio en un mes próximamente.

Para hacer el traslado del primero al segundo local, distantes el uno del otro como mil varas, y á pesar de

haber acondicionado bien el material de las culturas, bien fuese por la temperatura de 28 grados que tenia aquel dia la atmósfera, ó por retrasarse algo la cámara de refrigeración, lo cierto es que las culturas de gelatina se liquidaron desapareciendo como es consiguiente las formas en los tubos y quedando sembrados los medios nutritivos.

Una vez que reanudamos nuestras tareas, principiamos por practicar cultivos en placas á fin de obtener nuevas colonias que nos sirvieran para hacer los cultivos por puncion en los tubos de gelatina, y de igual manera para sembrar los caldos, y desde aquel momento empezamos á observar una serie de fenómenos tales, que por primera vez llamaban nuestra atención, y que se sucedian en todas las culturas que practicábamos.

Creuyendo que la liquidación intempestiva que habian sufrido las culturas en gelatina pudiera ser la causa, ó cuando menos haber influido en algo para que tales fenómenos resultasen, recurrimos en busca de la clave á las culturas en agar-agar, y con ellas sembramos la gelatina para las placas, y de igual manera se nos presentaron los mismos fenómenos, lo que invalidaba nuestra primera opinión: asi como tambien en los cultivos en caldo que hacíamos pasar por agar-agar, luego en gelatina, más tarde por papas, y nada conseguíamos sino obtener una evolución igual en todas las series, igual ciclo, iguales caractéres y constancia en su presentación durante seis meses en que me fué forzoso alejarme del pais, dejando el estudio en este estado.

COLONIAS.

Sembradas las placas de gelatina siguiendo el procedimiento que acostumbramos, á las veinticuatro horas no se podia distinguir colonia alguna, y la gelatina permanecia inalterable hasta el dia tercero en que se empezaba á distinguir el principio de la evolución por la aparición de pequeñísimos puntos claros vistos con ocular 3, y objetivo núm. 2 de Reichert, ó sean 48 diámetros.

Al cuarto dia se veian con más claridad, presentando su aspecto brillante, y pudiéndose apreciar lo mal limitado de sus bordes y contornos algo irregulares: observadas estas colonias por reflexión en la placa de gelatina, se podian distinguir apenas unas pequeñísimas manchas opalinas sin notarse liquidacion ni pérdida de sustancia.

Al quinto dia se presentaban como orladas por una especie de corona oscura, destacando en el centro la colonia brillante con su núcleo algo opaco: su aspecto era marcadamente granujiento, y con unas expansiones á manera de girones que llegaban hasta la corona que limitaba la colonia, pero de un diámetro pequeño, como de dos milímetros escasos.

Observada la placa á simple vista, se la encuentra

llena de pequeños agugeritos como si hubiesen sido hechos por picadura con un alfiler común, y en el fondo de estos una manchita blanco-súcia que lo limita.

Estas colonias no liquidan la gelatina por expansión produciendo los círculos especiales que no tardan en reunirse, sino que permanecen así diez ó más días hasta que alguna bacteria del aire se encarga de liquidar la placa, y entonces se observa también una particularidad extraña: en las placas típicas comunes del bacilo-coma se ven unas bandas estriadas color ceniciento que son los restos coloniales que surcan el campo corriéndose á los bordes de la placa hasta rebosarlos, mientras que en estas se ve en el líquido informe de la gelatina, que los pequeños puntos que constituían las colonias, sobrenadan los más en la superficie sin perder su forma discoide, y al tomarlos con la aguja de platino se nota enseguida su gran dureza, están las colonias como encallecidas, tal es su resistencia.

Practicadas coloreaciones sobre laminillas, se ve que las colonias que empiezan á dibujarse al tercer día están constituidas por largos espirilos como se aprecia en la figura 1.^a de la plancha 4.^a: estos espirilos no están arrollados en su carácter de tales como tirabuzones, sino que más propiamente son largas cadenas de bacilos-comas que estuviesen unidos por una sustancia trasparente que escapase al exámen, por cuanto la separación es en extremo notable, hasta el punto de que mirada la figura á distancia, más se parecen á las cadenas del bacilus an-

tracis que á los espirilos coléricos porque el espacio articular y la poca corvadura es más propio de aquellos.

Al día quinto ya se nota que tienden á desaparecer los espirilos, y que rotas las articulaciones se ven más bacilos, hasta que liquidada la placa de gelatina y tomando una colonia discoide, advertimos que está formada por bacilos comas exclusivamente sin observarse espirilos; estos bacilos algo crecidos y bastante encorvados toman perfectamente la coloración violeta de genciana, como se ve en la 2.^a figura de la plancha 4.^a

Como resulta de lo que acabamos de esponer, tenemos unas colonias que tardan en hacer su aparición en las placas de gelatina, que no crecen, y que en lugar de disgregarse, se condensan sus elementos hasta presentar una notable dureza, y que el caracter más precioso es el de estar constituidas por espirilos á su aparición, y concluir por los bacilos encorvados.

EVOLUCIÓN EN TUBOS DE GELATINA.

Las modificaciones que hemos apreciado en la evolución sobre tubos de gelatina son en extremo notables por su constancia en la multitud de series que con tal objeto instituímos, este ciclo que vamos á describir es tan característico y especial que no lo hemos visto ni parecido en ninguna otra bacteria hasta ahora conocida.

Hecha la cultura por punción en el tubo de gelatina, permanece el trayecto de la aguja apenas visible por espacio de cuatro dias, como si la punción hubiese sido practicada con la aguja esterilizada sin llevar elemento alguno, pues se nota el trayecto por la solución de continuidad, pero sin advertirse modificación alguna, ni en la superficie ni en el fondo del tubo.

DIA 4.º Y 5.º—Del cuarto al quinto dia se ve la cultura de cólera representada por la burbujita característica en la superficie con la falta ó pérdida de sustancia consiguiente, esta burbujita no presenta brillantez sino mas bien un aspecto hialino; es estremadamente pequeña y de forma de cono invertido.

El trayecto de punción está trazado por dos pequeñas porciones ó segmentos de hilo, uno superior separado de la burbuja ó cono por un espacio de un milímetro, y el inferior que aparece á una distancia del superior como de seis milímetros; en estos espacios se ve la gelatina trasparente sin traza alguna de trayecto: la línea de punción, ó mejor dicho los segmentos apreciables son delgadísimos y de un color perla con aspecto granuloso.

DIA 6.º—El dia sexto se nota mas ensanchada la burbuja, ha crecido algo, y presenta mas delineados sus contornos por un límite ceniciento; la línea quebrada de la punción está mas acentuada, y los espacios de separación de los segmentos son menores por haber ascendido algo la porción inferior.

DIA 7.º—En este dia se notan algunas mas modifi-

caciones importantes, lo primero la unión del segmento superior con la burbuja que permanece estacionaria, y lo segundo una especie de torsión en el fragmento inferior que ha dado por resultado un pequeño ganchito como los formados con las agujas de platino para preparar las laminillas que se deben colorear; el grosor de estos segmentos no ha crecido, es igualmente fino, y lo mismo permanecen en color y constitución granulosa.

DIA 8.º—En este día se presenta un cambio extraño; el tubo de cultura parece que no fuera el mismo, el cono de la burbuja está mas acentuado, tiene los bordes mas blancos, y parece como si por succión hubiera atraído hácia sí el segmento superior de la punción, que ha desaparecido para reforzar las paredes de la burbuja.

El segmento inferior, por el contrario, en lugar de obedecer á la fuerza de atracción superior, parece como si hubiera experimentado la acción de una presión en sentido inverso, es decir una compresión que hubiera actuado de la superficie al fondo, por que el segmento se ha encogido, ha disminuido de longitud hasta quedar reducido á la mitad, ganando en grosor, y presentando la figura de un toco interrogante; el espacio que media entre este pedazo y el cono de la superficie, se le ve al fijarse con detención que ha sufrido algun cambio, ha perdido algo de la transparencia que antes tenía la gelatina, pero sin apreciarse liquidación.

DIAS 9 Y 10.—Durante estos días se deforma la burbuja hasta perder la forma cónica, pues el vértice está

ahora constituido por un depósito blanco de sedimentación que se dirige á la derecha en forma de girón, quedando la burbuja esférica de tres y medio á cuatro milímetros de diámetro: el segmento inferior ha perdido su forma, y se muestra ahora mas grueso, y como una pequeña astilla que dirigiera una aguda esquirola hácia arriba; la gelatina del tubo permanece sin modificación alguna.

DIA 11.—Se observan los mismos caracteres que el día anterior, presentándose el segmento inferior notablemente mas engrosado, y prolongando hácia arriba la esquirola: el aspecto de este trozo es mas claro, y como dispuesto en estrias, ó imperceptibles listas con algunos grumos.

DIA 12.—La estraña figura que presenta el tubo de cultura es bajo todos aspectos digna de estudio; en veinticuatro horas se ha formado á espensas del doble material de sedimentación que tenían la burbuja y el segmento inferior; este material granuloso parece como si hubiera obedecido al mandato de un hábil constructor vidriero que por igual lo hubiera repartido para formar un tubo de vidrio de los empleados antiguamente en las lámparas de Kerosene, tubo fusiforme con el abultamiento en el sitio de expansión de la luz, y que poco á poco se estrecha hasta terminar en un grosor proporcionado.

Este tubo está suspendido en la gelatina en su parte mas ancha por la burbuja achatada; sus contornos son blanco claros y de un aspecto opalino, y el todo algo

trasparente, viéndose con lente de aumento que está sembrado de pequeñísimas granulaciones lactescentes que pasan desapercibidas á simple vista.

El tubo mide 23 milímetros de longitud, 5 en su porción mas ensanchada, y como 2 ó 2 y 1/2 en su prolongación.

El aspecto que presenta la gelatina que circuye al tubo es completamente trasparente, y el contenido hialino de este, trasparente tambien y formado por la gelatina liquidada.

DIAS 13 Y 14.—La figura del tubo se ha ensanchado en su base notablemente, presentando en la estremidad inferior una sedimentación lactescente, y todo el constituido por pequeñísimas granulaciones que solo por transparencia pueden ser apreciadas; la burbuja de la superficie de la gelatina sigue el mismo movimiento de la figura de tubo ensanchándose tambien, y el espacio que media entre este y las paredes del tubo de cultura es de cuatro milímetros aproximadamente.

DIAS 15 Y 16.—El ensanchamiento marcha rápidamente, y casi llega á tocar las paredes del tubo, presentando una forma clara de botella para agua, con base ancha, cuello corto, y como si tubiera un tapon de algodón, y dispuesta con la base hácia arriba; esta forma es tanto mas distintiva, cuanto la burbuja ensanchada ha quedado estacionada sin pasar del centro de la botella, mientras la sustancia hialina que constituye la figura de liquidación ha avanzado hasta casi tocar las paredes del

tubo, como puede verse en las figuras que van al final de este trabajo.

El aspecto hialino de la figura no ha sufrido ninguna modificación, como en todas las otras es necesario observarla por transparencia, pues á simple vista solo se aprecian los grumos sedimentados sin figura determinada.

DIA 17.—En este dia ha experimentado la figura una radical transformación; el elemento principal que domina la evolución, lo que constituye su carácter típico, la burbuja, que poco á poco ha ido deformándose hasta quedar como aislada en el centro del cuerpo hialino y en su parte superior, ha desaparecido sin dejar huella de su paso.

La superficie del tubo de cultura presenta el liquido trasparente con algunos puntitos ó granulaciones sin notarse depresión de nivel; entre la figura de liquidación, que ya toca las paredes del tubo, y la superficie, queda un pequeño espacio triangular de gelatina sin liquidar que sostiene la figura de liquidación parecida á una mitra; esta figura se presenta ahora con los contornos mas delineados, parece como si estuvieran revestidos de una condensación lactescente apreciable á simple vista, y dentro de este cuerpo hialino flotando las finas granulaciones.

DIA 18.—Ha cambiado la figura que presentaba el tubo el dia anterior, pues al liquidarse el sosten superior ha desaparecido la mitra, quedando una superficie completamente liquida que desciende unos doce milímetros,

y sostenida por el encage de un ángulo donde se ha sedimentado la colonización lactescente visible á simple vista.

La gelatina liquidada se presenta trasparente con sus pequeñas granulaciones.

DIAS 19, 20, 21 Y 22.—A partir de este periodo el movimiento de evolución está representado en ir abriendo las ramas del ángulo de encage hasta formar un plano horizontal. En estos dias la cultura casi no presenta modificación alguna, permanece estacionaria sin que avance la liquidación, pero se nota que la sedimentación lactescente va disminuyendo en una de las ramas del ángulo, como si el otro le robara su depósito para acumularlo al suyo.

DIAS 23 Y 24.—Al llegar á estos dias la liquidación descende con rapidez, es decir el angulo se abre visiblemente, haciéndose cada vez menos clara la colonia que marca el límite entre la gelatina liquidada, y la que no lo está todavía.

DIA 26.—La colonia forma un verdadero diafragma que separa la liquidación, diafragma incompleto por que no tapa por todas partes la gelatina que está sin liquidarse; en unas es como una ligera película, mientras en otras es mas grueso el sedimento, y como si estuviera medio doblado ó retorcido, y así en este estado queda, unas veces bajo forma de media luna, y otras como un segmento de círculo sin que avance mas la evolución, permaneciendo la cultura trasparente, sin advertirse en

algunas partes el límite de demarcación entre la gelatina liquidada y la que no lo está todavía.

Este es el completo ciclo evolutivo que ha llamado vivamente nuestra atención, pues las formas que presenta son en extremo caprichosas, tan pronto un tubo de lámpara, como una botella de agua, como una mitra, y sucediéndose con una regularidad tal que constituye su carácter especial.

DIFERENCIAS.

Inútil nos parece establecer minuciosamente las diferencias entre la evolución elástica; la marcha tardía de la liquidación, las extrañas formas que revisten aquí, lo imperfecto de la evolución que tan pronto avanza como queda estacionaria, á capricho, son fenómenos, raros y extraños que indican desde luego una perturbación y que en manera alguna pueden asemejarse al ciclo evolutivo regular ya descrito antes.

La aparición tardía de la burbuja y el trayecto de punción, distan de lo normal de una manera notable; la falta del hilo retorcido dentro del estuche, la marcha en fin, se separan por completo, constituyendo una modalidad distinta que hasta ahora no habíamos observado.

¿A que es debido este fenómeno?

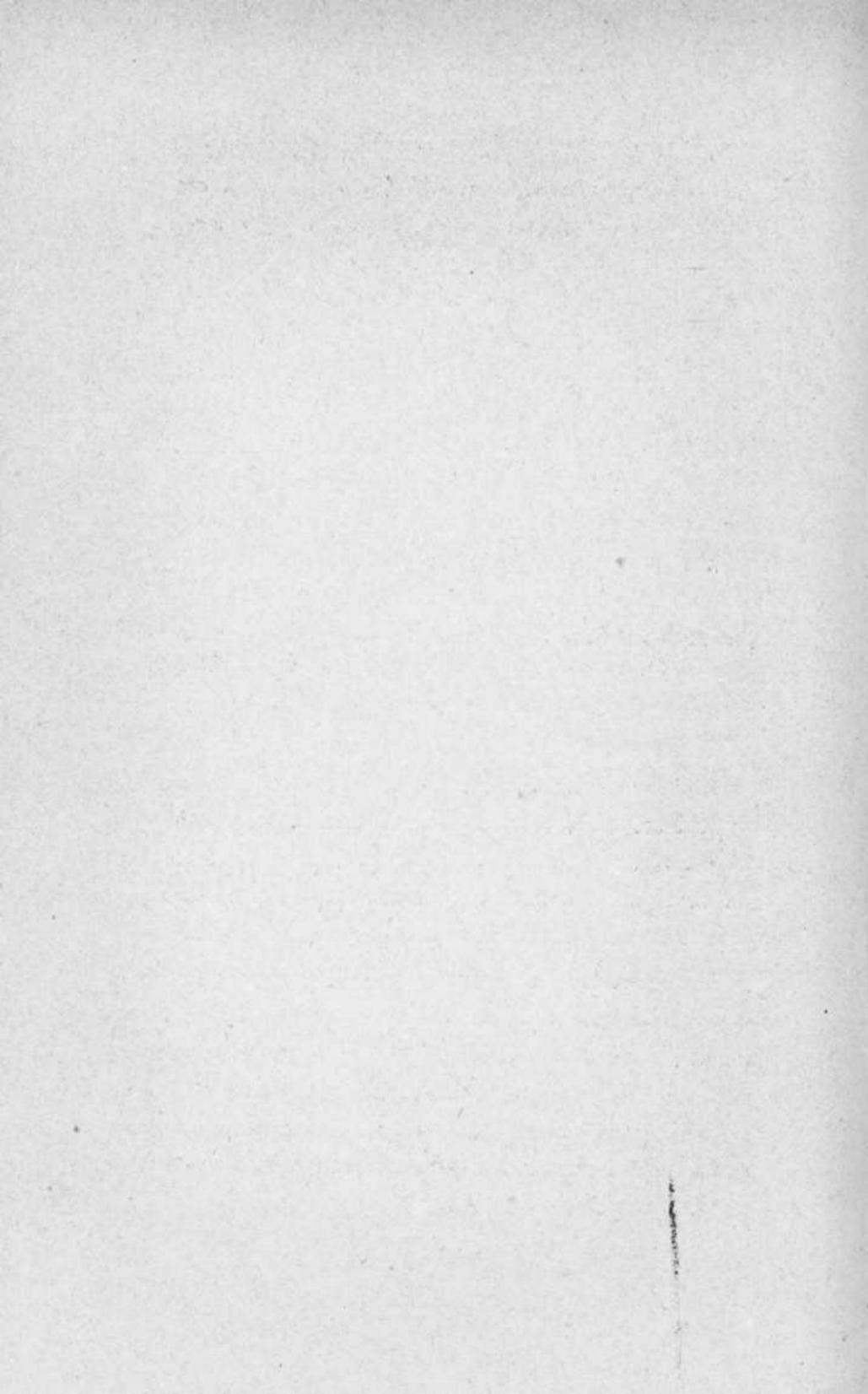
Indudablemente á la falta de actividad liquidante,

propiedad que en su mayor actividad posee el bacilo-coma de una manera fija é invariable, pero que poco á poco va perdiendo no por involución, sino por atenuación de esta propiedad, que á no dudarlo debe acompañar á las otras que le son propias, siguiendo la ley de la naturaleza, y que solo una acertada selección podría hacer recuperar tal vez.

Mientras el coma en todo su poder llega á liquidar por completo el tubo de gelatina sedimentándose la colonia en masa informe en el fondo, en esta estraña modalidad llega á un límite en que cesa el poder de liquidación, y la gelatina permanece intacta como á su mitad de la capacidad del tubo, y de allí no pasa, se han agotado sus fuerzas, y allí morirá el bacilo en medio de la sustancia nutritiva intacta.

Si á los veintiocho dias de esta estraña evolución hacemos placas sembrando con la colonia sedimentada en la mitad del tubo, ó antes, obtendremos la misma evolución que acabamos de describir, presentando las colonias de espirilos que mas tarde dan lugar á los comas, y que toman la coloración perfectamente, si bien los encontramos algo mas gruesos y encorvados de lo normal.







CAPÍTULO VII.

EVOLUCIÓN EN CALDO.—EN AGAR-AGAR.—EN PAPAS.—RESÚMEN DEL
CICLO EVOLUTIVO.

LA evolución en el caldo presenta algunas particularidades que á simple vista parecen estar en contradicción con su marcha evolutiva y con relación á las formas espirales; hemos visto que en la gelatina se forman de una manera invariable los espirilos al aparecer las colonias en las placas, y que solo trascurridos algunos dias cuando el medio tiende á la liquidación es cuando observamos la escisión de los comas: pero aquí está patente una nueva modalidad, cuando los espirilos evolucionan con rapidez segmentándose los comas, porque entonces caminan prontamente hácia las formas esteriles.

Numerosos han sido los cultivos que hemos practicado para seguir un completo estudio acerca de este punto, y por fin hemos podido conseguir comprobar dos modalidades evolutivas que responden perfectamente á la interpretación de todos los fenómenos observados.

En lugar de obtener la película característica donde se agrupan en colonia los millones y mas millones de comas, aqui no sucede lo propio, la película deja de formarse, no se aprecian comas, sino solamente espirilos, largos espirilos, que nunca habíamos obtenido en nuestros cultivos antiguos con la evolución clásica, pero con esta particularidad: si sembramos en caldo las colonias recientes de las placas de gelatina, y no aparecen los copos dentro de los cuales se hallan encerrados los espirilos, y si por el contrario resultan comas como los vemos en la plancha 4.^a figura 2.^a, entonces no se ven los copos, sino que pululan en la superficie del líquido, y estos comas presentan enseguida las formas que podemos observar en la plancha 5.^a figura 1.^a; pero al resultar de la siembra los espirilos, entonces ofrecen resistencia y tardan mucho mas en aparecer las formas degenerativas.

Si tomamos de una colonia que tenga bastantes días, de donde hayan desaparecido los espirilos y solo se encuentren comas, y si estas las sembramos en el caldo, resultan del tercero al cuarto dia los espirilos que tardan en presentar la escisión en comas, para ultimamente degenerar en cuerpos globulosos ú ovoideos como se ven en la plancha 6.^a; pero si antes de presentar la escisión

hacemos cultivos de espirilos, y estos á la vez se renuevan, permanecen estas formas y se evita la aparición de los cuerpos ovoideos.

Estos cuerpos ovoideos son tambien el resultado á que llega la evolución de las oosferas, que vueltas á sembrar en caldo no resultan de ellas los espirilos como podría suponerse al examinar la figura 2.^a de la plancha 5.^a sino, que los comas que acompañaban á las oosferas se han alargado y constituyen los espirilos, que en el mismo medio no tardan en degenerar hasta presentarse los cuerpos ovoideos: esta última forma no es germinativa, es una degeneración estéril, pues por mas que se la siembre en caldo y con ella se practiquen placas de gelatina, es imposible obtener colonias, ni traza alguna de vida, las placas permanecen estériles, y el caldo tampoco experimenta modificación.

Asi es que despues de seguir pacientemente estos ciclos y venir á parar en estas formas, podemos lógicamente pensar que hemos llegado al último límite de su existencia, á su última etapa, representada por los cuerpos ovoideos transparentes, esferas protoplasmáticas que no pueden germinar, por que el microorganismo al perder su forma típica ha perdido tambien todas sus propiedades, termino evolutivo que marca su última etapa, y esto se comprueba evidentemente por que en estos cuerpos ovoideos no se aprecian las formas de involución señaladas por Van-Ermengen, y que hemos visto algunas veces en las culturas viejas de la clásica evolución:

nada, aquí no existen sino ovoides estériles en toda su pureza sin que ninguna otra forma pueda observarse en el campo del microscópio.

EN CALDO.

En la cultura sobre caldo nutritivo que haya sido practicada la siembra con una pequeña porción de la colonia informe de un tubo de gelatina que evoluciona de la manera estraña que ya hemos expuesto, ya antes, ó cuando se ha sedimentado como imperfecto diafragma que separa la gelatina liquidada de la que no lo está; ó ya tomando directamente de una colonia recién aparecida en la placa de gelatina, ó antes de su destrucción, ó cuando sobrenada como pequeño disco en medio de la liquidación de la placa, observamos invariablemente estos fenómenos en el medio nutritivo.

Durante las primeras cuarenta y ocho horas siguientes á la siembra, el caldo permanece inalterable, sin perder su trasparencia habitual, y sin notarse en la superficie el menor indicio ni traza alguna de película, ya se le tenga tapado el frasco ó no, en la estufa.

A partir de este momento y hasta el día tercero y algunas veces el cuarto, se empieza á notar el enturbiamiento del caldo; no se observa ni película en la

superficie ni sedimentación en el fondo del frasco, pero si á simple vista nada se observa en el medio nutritivo, no por eso dejan de haberse presentado modificaciones, pues observando á una luz intensa y por transparencia la botellita de Erlenmeyer, ó el frasco, se ven suspendidos en el caldo unos pequeñísimos copos hialinos que van poco á poco creciendo hasta adquirir un grandor como una gota de agua.

Estos copitos transparentes al pescarlos con una aguja de platino, se aprecia su consistencia albuminosa, se deshacen entre los dedos como si fuera un cuerpo untuoso estremadamente fino y despide al disgregarlos entre los pulpejos un olor algo desagradable como el que desprende el bacalao podrido; en estos copos es donde se encuentran encerrados los largos espirilos, ó más bien las largas cadenas de bacilos-comas que toman uniformemente la coloración violeta de genciana.

Observados estos copos en las cámaras de Ranvier, con inmersión homogénea, se vé que los espirilos no surcan el campo del microscópio con aquella vivacidad que presentan las formas típicas, no se aprecian en el campo aquellas ondulaciones, aquellos vigorosos choques de las pequeñas serpientes, aquella verdadera *danza macabra*; ahora los observamos con poco movimiento, es tardo en la mayor parte, y nulo en muchos, oscilando solamente algunos como cuerpos vibrátiles, los que se arrastran perezosamente por la larga cola que los acompaña, quedan por momentos parados como exhaustos de fuer-

zas, ó como si quedasen aglutinados: no vemos segmentarse los comas para emprender aquellas corridas, subidas y bajadas, y continuas zambullidas que lo desquitaban de su anterior aprisionamiento, ahora cuando algún coma queda libre, permanece quieto en el sitio y solo por la oscilación vibratoria se vé que está vivo; estos comas aunque pocos, se engrosan y concluyen por perder todo movimiento.

La cultura de caldo á los siete ú ocho días presenta en alguno que otro punto de su superficie unos fragmentos de película de color café claro, fragmentos de consistencia albuminosa, como si fueran algunos pequeños copos que aliviados de su carga hubieran salido á flote: En estos como detritus que despiden desagradable olor, encontramos algún coma engrosado y algunos ovoides.

Trascurridos quince ó veinte días el caldo ha recobrado algo de su primitiva transparencia; en la superficie se nota una ligerísima capa trasparente que se quiebra al mover el líquido, y que no contiene microorganismos; y en el fondo se ve una sedimentación abundante color ceniza oscuro, donde están depositados los cuerpos ovoides que vemos en la plancha 6.^a.

Si sembramos el caldo con una colonia de las placas de gelatina donde ya los bacilos comas estén segmentados de los espirilos, entónces es lo más frecuente observar en lugar de los copos hialinos, las formas de la figura primera plancha 5.^a formas que concuerdan en

algo con las descritas por Ferrán con el nombre de oosferas, cuyas formas están suspendidas en el medio nutritivo sin constituir película, y que al pasar tres días de su presentación, solo encontramos comas engrosados libres y en el fondo la cantidad de ovoides, que no tardan en formar exclusivamente el sedimento de la cultura, recobrando el medio nutritivo algo de su anterior transparencia.

Si de esta cultura sembramos los comas, obtenemos á los cuatro días bacilos comas y alguno que otro espirilo que marchan con toda rapidez hácia la formación de ovoides.

Como se vé por todo lo expuesto, esta evolución en caldo no concuerda en nada con la que es peculiar al bacilo coma en toda la actividad de sus propiedades morfológicas, existen capitales diferencias que no necesitan ser expuestas después de lo ya dicho anteriormente, debiendo si fijar la atención en los pequeños copos hialinos suspendidos en el caldo donde están colonizados los espirilos, como para resistir la degeneración y conservar su especie, forma rara de colonizar como si ya no precisasen para nada del oxígeno del aire para su vida y desarrollo.

EN AGAR-AGAR.

Pocos elementos pueden prestarnos las culturas practicadas en este rico medio nutritivo, pero no obstante también apreciamos aquí una diferencia manifiesta con la evolución regular.

En lugar de presentarse las colonias á las 24 ó 48 horas con su característico color blanco perla algo sucio, y mostrarse algo elevadas en la superficie del agar-agar, nos encontramos ya con un retraso en la aparición colonial; los puntos ó rayas son perceptibles al tercer día lo más pronto, y más transparentes sin casi coloración perla; éstas colonias no se elevan apenas, los puntos son más pequeños y las rayas casi perceptibles.

Coloreando su contenido, nos encontramos con los espirilos típicos de esta nueva modalidad evolutiva, espirilos impropriamente así llamados, por cuanto están constituidos por la articulación de los bacilos comas, dejando entre sí los espacios claros que corresponden á sus soldaduras protoplasmáticas, como se les encuentra en la figura 1.^a de la cuarta plancha.

En el agar-agar aparecen mas cortos, no son tan largos los espirilos, y los comas algo mas delgados que los cultivados en gelatina, y caldo sobre todo.

En el agar-agar no hemos podido observar los cuerpos ovoideos, pero si algunas formas involutivas conocidas como son la rugosidad y la deformación, que no tardan en desaparecer, quedando en su lugar unas especies de granulaciones que casi se colorean, y que no evolucionan ni en caldo, ni en las placas de gelatina: granulaciones que constituyen los restos ú *osamentas bacterianas* de las formas primitivas.

EN PATATAS.

Tampoco en este medio nutritivo podemos buscar grandes elementos diferenciales que nos sirvan para el estudio de este caso, pero tambien aquí se nos presenta la dominante en el retraso para la aparición colonial y la poca acentuación de su evolución.

La película en la superficie de la patata se forma pasados tres dias, esta es casi incolora, y tan ténue y de tan poco espesor que á simple vista no puede en manera alguna confundirse con la cultura del coma en su actividad normal.

Con el microscópio se ven en la cámara húmeda, los espirilos casi sin movimiento, no culebrean, y cuando algun coma se separa no ejecuta aquellas cabriolas clásicas, queda en el mismo sitio en que se separó como sin ganas de espaciarse en el medio nutritivo.

Por la coloración en laminillas se aprecian los comas articulados en largas cintas, y trascurridos algunos días solo vemos deformaciones que no toman la coloración, y alguno que otro ovoide, también estériles, y que desprenden un olor insoportable cuando se levantan las campanas de las cámaras húmedas.

RESUMEN DEL CICLO EVOLUTIVO.

Después de dejar sentados los principales caracteres, que presenta la evolución extraña del bacilo-coma, en los varios medios nutritivos, podemos resumir diciendo, que el ciclo evolutivo del coma-bacilo está representado primero por su clásica evolución descrita por Koch, donde el bacterio se presenta con su forma encorvada, comas aislados que después de nutrirse en el medio de cultura se alargan hasta constituir los espirilos, que otra vez sembrados, se segmentan los comas por división y evolucionando así típicamente.

Después de sucesivas y continuadas series de generaciones llega un momento en que principian a alterarse sus propiedades esenciales, y a modificarse a la par su manera de comportarse en los medios de cultura, y predominando las formas de resistencia los espirilos, que se presentan hasta en las colonias de gelatina recién

aparecidas, espirilos que al dividirse en comas aparecen mas abultadas, hasta que terminan en cuerpos ovoideos completamente estériles; es decir que el bacterio estraído en toda su virulencia del intestino del colérico, despues de estar por un tiempo evolucionando típicamente en los medios nutritivos, empieza poco á poco á perder sus propiedades evolutivas hasta quedar reducido á los cuerpos ovoideos estériles, á la nada en fin.





CAPÍTULO VIII.

COLONIAS DE ESPIRILOS. —APRECIACIONES DIVERSAS.—INTERPRETACIÓN

NO recordamos haber visto indicado por ningún observador que se encontrasen en la gelatina las colonias de espirilos en el cólera; nadie que nosotros sepamos ha encontrado colonias tales, y en cuanto á nuestras propias observaciones, habíamos visto siempre que las colonias del bacilo-coma en las placas de gelatina estaban constituidas por comas exclusivamente, al aparecer el punto colonial, mas tarde alguno que otro espirilo, y últimamente al liquidar por expansión es cuando los encontrábamos en mayor núme-

ro, pero con muchos bacilos-comas tambien; estas formas espirales aumentaban en las culturas en caldo despues de trascurridos unos tres ó cuatro dias, y de la misma manera en los otros medios; pero hemos llegado á un periodo en que se encuentran las verdaderas colonias de estos espirilos, colonias que siendo la fase inicial evolutiva parecen indicar que esta es la forma típica de la bacteria colérica.

Estos espirilos vueltos á sembrar en gelatina, nos dan iguales colonias con idénticas formas espirales, como si fueran las formas estables que les correspondieran.

Que la forma primitiva del bacterio del cólera sea el espirilo ya fué indicado por Koch, creyendo que el virgula era el estado intermedio entre el espirilo y el bacilo, ó los fragmentos del espirilo que ha sufrido la escisión.

Debe ser en extremo rápido su desarrollo por que al aparecer la colonia en la gelatina no se ven más que comas en su periodo de máxima virulencia, lo que claramente indica, que el bacilo-coma ha tenido tiempo suficiente para alargarse y dividirse nuevamente, sin dejarse sorprender en la segmentación antes de formar colonia.

Las formas espirales aparecen cuando el bacterio evoluciona en medios nutritivos pobres, viniendo á constituir formas de resistencia para la conservación de la especie: de igual manera aparecen cuando la bacteria envejece, y así tenemos que Ferrán obtiene sus espirilos en

el caldo poco nutritivo que él emplea, como tambien pueden observarse en las culturas en caldo nutritivo de Koch despues de trascurrir algunos días de la siembra, ó lo que es lo mismo cuando la bacteria está agotando el material nutritivo de la cultura, dejándola en malas condiciones.

APRECIACIONES DIVERSAS.

Conformes parece que se encuentran los hombres de ciencia en considerar los espirilos como formas de resistencia para la conservación de la especie, pues surgen cuando el medio que les rodea amenaza por agotamiento su existencia.

Petrone al tratar del espirilo lo viene á considerar como bacteria madre, los virgulas como hijos, comparándolos á una ténia adulta donde los proglótides correspondieran á los virgulas: la multiplicación es el resultado de una segmentación de los espirilos en bacilos-comas.

Hueppe dice que los largos espirilos se forman en los medios poco nutritivos, viniendo á ser los antecesores de las formas involutivas.

Flügge manifiesta que los espirilos parecen tener tendencia para mas tarde producir las formas degenerativas.

Babes de igual manera manifiesta que en los medios nutritivos que contienen alcohol se presentan los largos espirilos precursores de las formas de involución.

Ferrán, en sus caldos poco nutritivos obtiene los espirilos que son el punto de partida de las formas por él estudiadas.

Van-Ermengen es más explícito, porque dice claramente, que cuando el medio nutritivo empobrece ó cuando la bacteria se hace vieja, ó haya perdido sus fuerzas vegetativas aparecen los filamentos alargados ligeramente ondulados; ellos parecen ser los encargados de conservar la especie; al trasportarlos á un medio nutritivo adecuado producen generaciones nuevas, vigorosas, dotadas de todas sus propiedades.

Sin negar lo que manifiesta *Van-Ermengen* de producirse los espirilos cuando la bacteria envejece ó haya perdido sus fuerzas vegetativas en lo que estamos conformes en un todo; hemos observado que el transporte á medios nutritivos ricos, no ha podido en último término devolverles sus propiedades características, y han seguido con el sello especial que les imprimió su evolución, sin verlos retrogradar á la forma primitiva y á sus propiedades como es consiguiente.

INTERPRETACIÓN.

Nosotros hemos obtenido unas colonias nacientes en las placas de gelatina que estaban constituidas por espirilos exclusivamente, cuyos espirilos sembrados otra vez en gelatina dan lugar á otros semejantes como si esta forma fuera la estable de la bacteria, y despues de haber actuado por ocho ó mas dias entonces aparecen tardiamente los bacilos-comas que se han segmentado, y por consecuencia desaparecido las espirales.

De igual manera en el caldo sembrado con estas formas espirales, obtenemos la primera aparición de los espirilos encerrados en una bolsita hialina que persiste hasta la deformación.

¿A que responde este fenómeno?

Nosotros creemos tambien que el espirilo es la forma determinante de la bacteria, cuyo espirilo se divide para dar lugar á los comas; que para esta división se necesitan condiciones por parte del bacilo, y por parte del protoplasma que los contiene en las espirales.

El bacilo-coma en su máxima virulencia y actividad está dotado de vivísimos movimientos de un vigor tal que acaban por romper la cubierta protoplasmática, condición de indispensable necesidad para la división de los

espirilos, que tiene que ser acompañada de la poca resistencia que ofrezca la cubierta ó estuche que los encierre.

Las sucesivas generaciones de la bacteria, ó lo que es lo mismo el paso por multiplicadas séries imprime modificaciones en las propiedades de la bacteria así como tambien en la constitución de sus elementos, y á esto se deben las formas espirales coléricas.

El coma va perdiendo poco á poco sus esenciales propiedades y con ellas el vigor de su movimiento activo; esto lo observamos en las cámaras de Ranvier donde le vemos tardo y perezoso como viejo que encorvado por la edad hubiera perdido la elasticidad de sus articulaciones y el vigor contractil de sus músculos.

Las modificaciones de testura las hemos apreciado claramente en la estraña evolución: así como en la evolución clásica las colonias del bacilo-coma se disgregan con facilidad, disolviéndose casi en la gelatina de las placas; hemos visto en las pequeñas colonias discoides de la evolución estraña, una especial dureza bastante manifiesta que indica una gran resistencia de su cubierta protoplasmática; pues así de igual manera el estuche ó cubierta protoplasmática que encierra los espirilos debe sufrir una idéntica trasformación de endurecimiento.

Con estos dos factores, pérdida del vigor en su movimiento por parte de los comas y mayor resistencia de la cubierta del estuche por endurecerse el plotoplasma, tiene que resultar necesariamente que los bacilos-comas

permanezcan mucho mas tiempo encerrados en su prisión, constituyendo las largas cadenas que tardan en dividirse, hasta que destruyendose la cubierta que los retiene, quedan por fin en libertad ó permanecen allí hasta que llega el último periodo de la involución.

Solo de esta manera nos hemos podido esplicar las colonias de espirilos, y solo asi por medio de estas modificaciones de testura comprender el retraso y modalidad en la liquidación de la gelatina.





CAPÍTULO IX.

CONCLUSIONES.—ATENUACIÓN NATURAL DEL VACILO-COMA.—VACUNA
PRESERVADORA.

DESPUÉS de haber expuesto todo lo concierne á la evolución de la manera más completa que nos ha sido posible, faltándonos solamente la parte experimental que trataremos de complementar en un próximo trabajo, nos resta dilucidar el punto de duda que se ofrece á simple vista; si esta modalidad es la expresión de un estado mormal del bacilo-coma en su período avanzado ó de transición, ó si es simplemente una involución ó degeneración que traiga en pos de sí los fenómenos dominantes que hemos descrito.

Conociendo las dificultades que entraña una diferenciación de este género, que debe estar basada en el profundo conocimiento de las propiedades evolutivas del bacilo, y aun cuando acerca de este punto no se haya dicho la última palabra, nos atrevemos á afirmar que no se trata de formas involutivas.

Para que se presenten los fenómenos de involución es necesario que la bacteria actúe por algún tiempo en medios nutritivos demasiado pobres, que al no poderles prestar los principios que ella necesita para desarrollar sus propiedades vitales, caen en el marasmo, y al perder aquellas se deforman caprichosamente, siendo tan claras estas deformaciones que el ojo menos práctico las descubre al primer golpe de vista; al perder su forma primitiva se abollan en unos puntos, mientras en otros se retraen, formas demasiado raras que no se asimilan á las conocidas y que al faltar en ellas la unidad, por observarse el poliformismo algunas veces, no puede menos de pensarse con certeza que se está en presencia de una completa degeneración.

Cuando estas formas involutivas se las trasporta á los medios nutritivos los más ricos, no evolucionan, perdieron el poder de reproducción y quedan estériles: además, estas formas están revestidas por un protoplasma alterado que no adquiere con uniformidad la coloración que se desea darles, y así las vemos coloreadas imperfectamente, pues mientras en unas partes absorben la sustancia colorante, en otras quedan sin ella, resul-

tando las formas en extremo raras y caprichosas que apreciamos con el microscópio en estos estados finales.

Estas condiciones generales del último período, ó sea del período degenerativo, en manera alguna concuerdan con las presentadas en la estraña evolución; aquí el bacilo-coma evoluciona en todos los medios nutritivos, y aun cuando no lo efectúe con aquella actividad que le es propia, lo cierto es que evoluciona aunque de una manera lenta.

Cuando se colorean los comas y los espirilos, no presentan los puntos claros, ni espacios irregulares, sino que absorben la sustancia colorante con perfecta uniformidad.

Con relación á su forma la conservan típica, no se observan en ellos ni las abolladuras ni retracciones, ni las modalidades estrañas que marcan la involución; se nos presentan con su carácter especial de coma, algo más crecido, un poco más acentuada la corbatura, pero sin otra particularidad más que la de sobresalir las espirales, ó mejor las largas cadenas de comas articulados.

Estas particularidades nos hacen rechazar la involución de una manera terminante, y como el período en que se encuentra el bacterio tampoco es el que corresponde á su máxima actividad ó de primera fase, tenemos que aceptar un período intermedio completamente normal hasta ahora desconocido, en que modificadas sus propiedades presenta un sello especial digno de estudio.

Este período intermediario ó de transición no es en manera alguna el principio de la degeneración ó su primera fase inicial hácia ella, pues de ser así, bastarian los medios nutritivos para hacerle retrogradar, y por el contrario lo vemos recorrer séries y más séries pasando por ricos medios sin que abandone las propiedades que le son inherentes, y presentando en su nuevo ciclo evolutivo una constancia que solo las formas bien determinadas nos ofrecen.

ATENUACIÓN NATURAL DEL BACILO-COMA.

La estabilidad y constancia del período de transición indica evidentemente una modalidad propia á la cual ha llegado *efecto del continuado paso por sucesivas generaciones*, durante las cuales, de una manera imperceptible ha debido ir perdiendo poco á poco la acentuación de sus propiedades, hasta resultar una verdadera atenuación natural.

Si la atenuación de las bacterias se consigue someténdolas por determinado tiempo á la acción de elevadas temperaturas, ó por el pase de varios animales, vemos aquí en el coma, que sin emplear estos medios se puede obtener la atenuación, propiedad que la misma bacteria se encarga de presentarnos después de trascu-

rrir un período de tiempo, en que cansada de pasar por repetidas generaciones queda inactiva sin retrogradar á su primitivo estado de actividad.

El peligro que entrañan las atenuaciones, consiste en que la bacteria pueda recobrar su primitiva virulencia que puede ser funesta cuando se trata de operar con ella la inmunidad, y esta sería la más preciosa propiedad que ofrecería el período de transición, permanecer igual en todas las temperaturas y en todos los medios nutritivos sin que la virulencia se presentase y por lo tanto constituyendo la seguridad en este caso.

¿Es posible atenuar el bacilo-coma para con él dar al organismo la inmunidad?

Indudablemente que si es posible, como hemos visto anteriormente, atenuación natural exenta de todo peligro, que puede ser aprovechada para dar la inmunidad contra el cólera asiático, como se practica con el *bacillus antracis*.

VACUNA PRESERVADORA.

Las vacunas anticoléricas han ocupado la atención pública siendo objeto de rudos ataques y de fogosas defensas por parte de sus impugnadores y propagandistas; conocidas son de todos gracias á los trabajos del

Dr. Ferrán, *las vacunas químicas* que ahora vuelven á estar sobre el tapete por la resurrección que de ellas ha hecho el Dr. Gamaleira ante la academia de ciencias de París, y sobre la cual reclama con justicia el médico español la prioridad que en ciencia y conciencia le pertenece.

Sin entrar á tratar este delicado punto que se condensa así, obtener la vacuna por los cultivos esterilizados por medio del calor, ó lo que es lo mismo, matando al bacterio, utilizar sus secreciones y pudiéndole dar la máxima virulencia cultivándolo en série en palomos.

Como se ve no constituye la vacuna la atenuación del bacilo-coma, sino solamente un *producto químico* que se obtiene con la muerte de este; producto químico ó *vacuna química* sobre la cual resta mucho por dilucidar y que los bacteriólogos han mirado con marcado desden, sin concederle la importancia que el Dr. Ferrán le atribuye, y acerca de la cual no es de este lugar el planteamiento de tan interesantísima cuestión.

Encontrada la atenuación natural del bacilo-coma, siendo esta estable sin peligro de recobrar su primitiva virulencia, creo que habremos obtenido el desideratum, y con él la preservación sin temor ni peligro alguno.

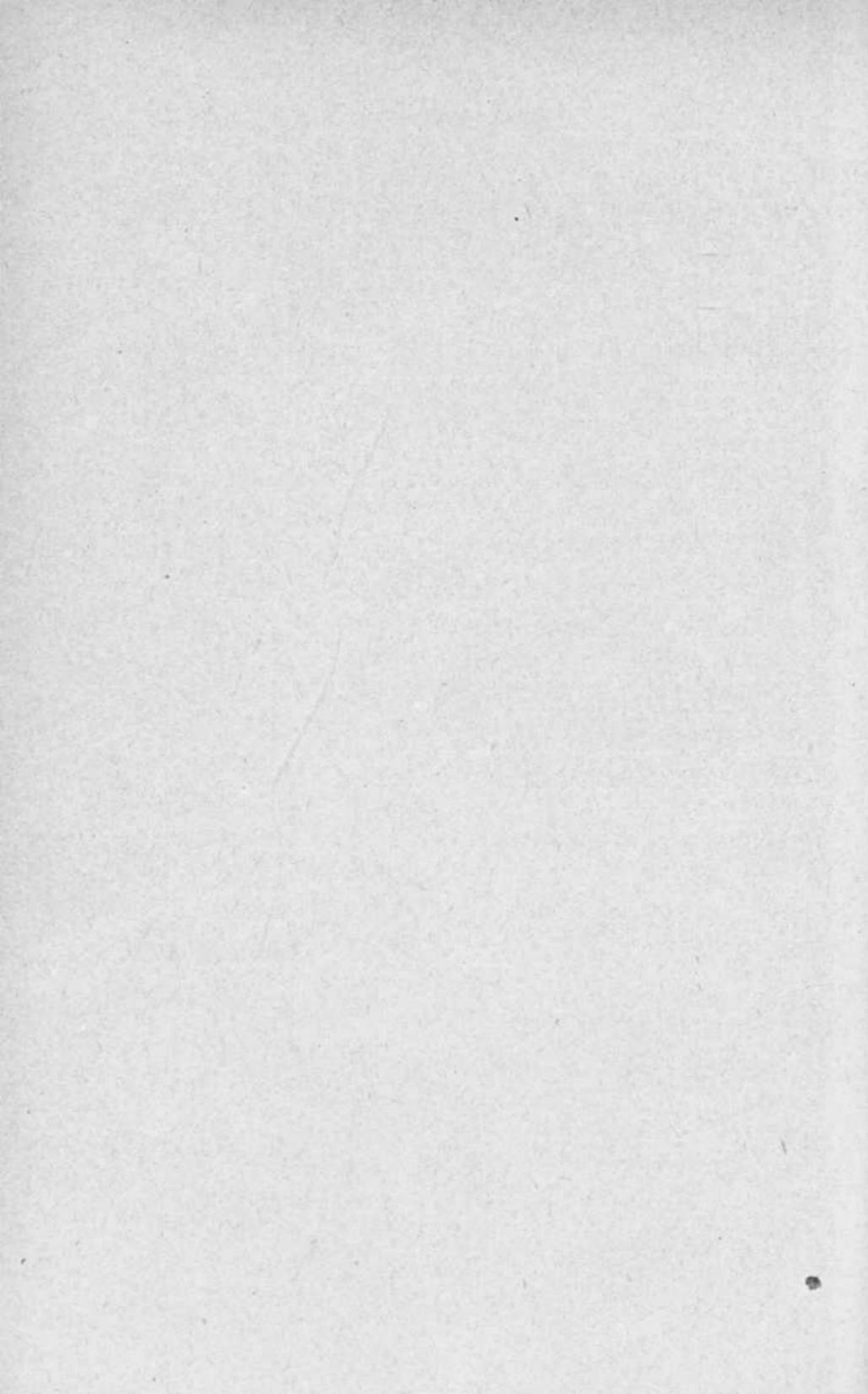
Queda por hacer la experimentación demostrativa sobre este interesante punto, y este será el objeto de mi estudio preferente en el Laboratorio de la Asistencia Pública de Buenos Aires, asunto al cual dedicaré todos mis esfuerzos y que no tardaré dar á conocer.

Si la experimentación corresponde á las esperanzas que me hace concebir la lógica deducción de los hechos observados, entonces tendremos la *vacuna preservadora*, empleando el bacterio en su periodo de transición, periodo fácil de reconocer tanto por la forma del bacterio, cuanto mas especialmente por su ciclo evolutivo que es por demás característico.

Con esta vacuna dejaremos de tener el peligro que entraña la virulencia, y con el bacterio atenuado satisfacer la condición en que descansa el principio de atenuación asentado por el ilustre Pasteur.

Los decisivos estudios de experimentación nos darán la clave para resolver este asunto tan trascendental que vuelve á ocupar la atención de la ciencia, y sobre el cual nos apresuramos á sentar los fundamentos esenciales en que descansan nuestros trabajos, por lo que importar pueda á los resultados ulteriores.

FIN.



APÉNDICE.

ESPLICACIÓN DE LAS FIGURAS.

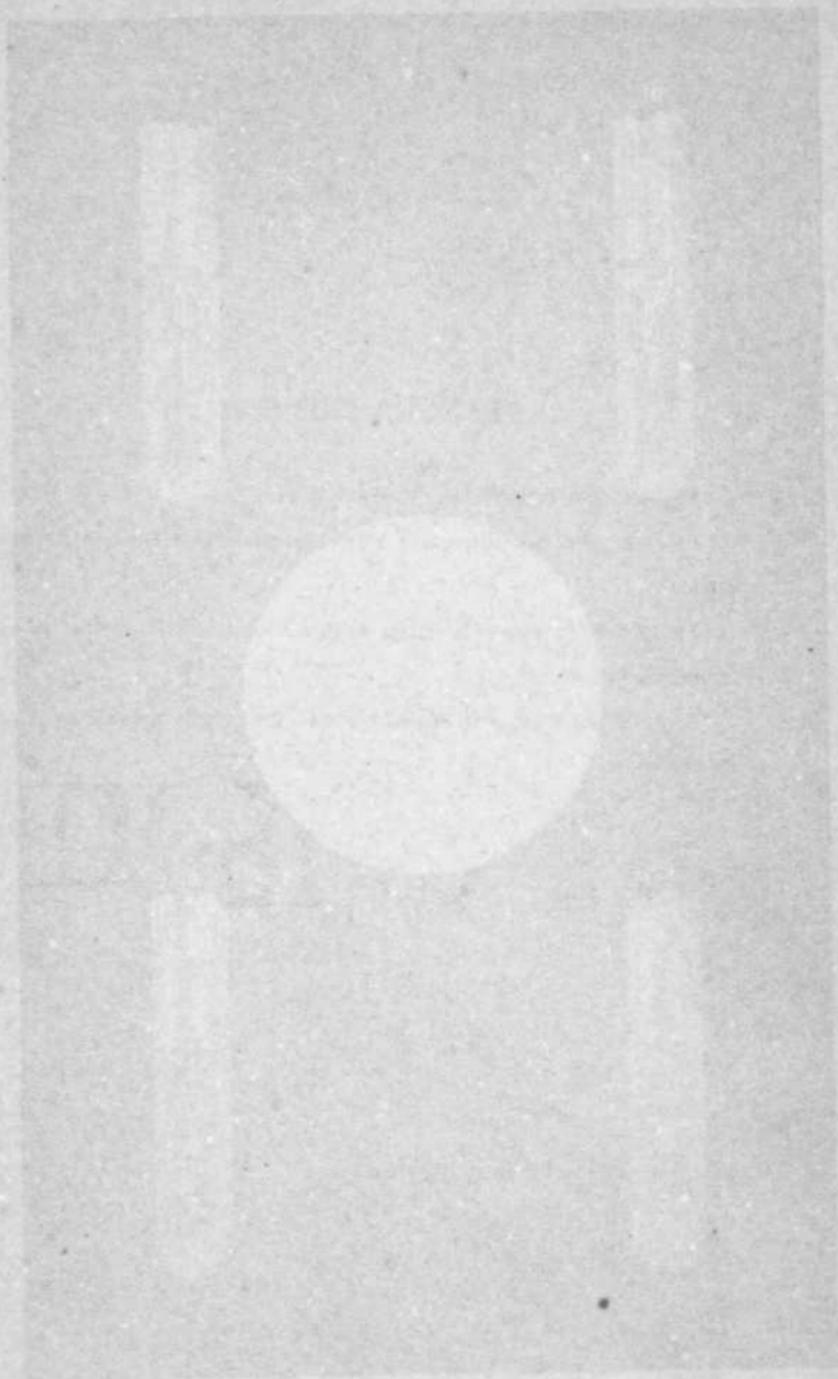
PLANCHA PRIMERA.

FIGURA A.—Preparación del Bacilo-Coma.

FIGURA NÚM. 3.—Cultura de cólera en gelatina de Koch á los tres días.

FIGURA NÚM. 10.—La misma cultura á los diez días, donde se vé la médula espiral.

FIGURAS 14 y 22.—La misma cultura á los catorce y veintidos días de evolución.



PLANCHA I.



PLANCHA II.

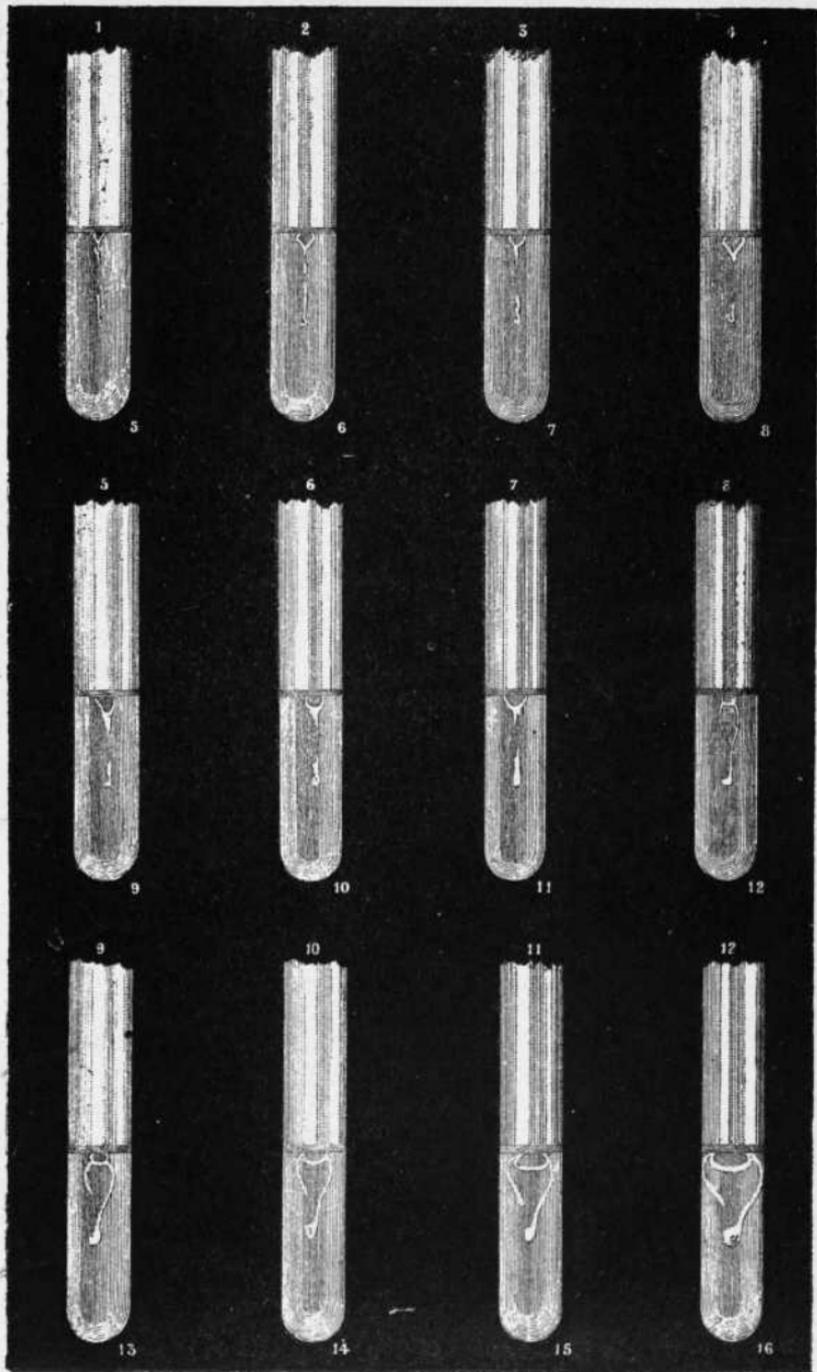
EVOLUCIÓN EXTRAÑA DEL BACILO-COMA EN TUBOS DE GELATINA NUTRITIVA DE KOCH AL 10 o/o.

Los números colocados en la parte superior de los tubos son los de orden, y los inferiores corresponden á los dias de cultivo.

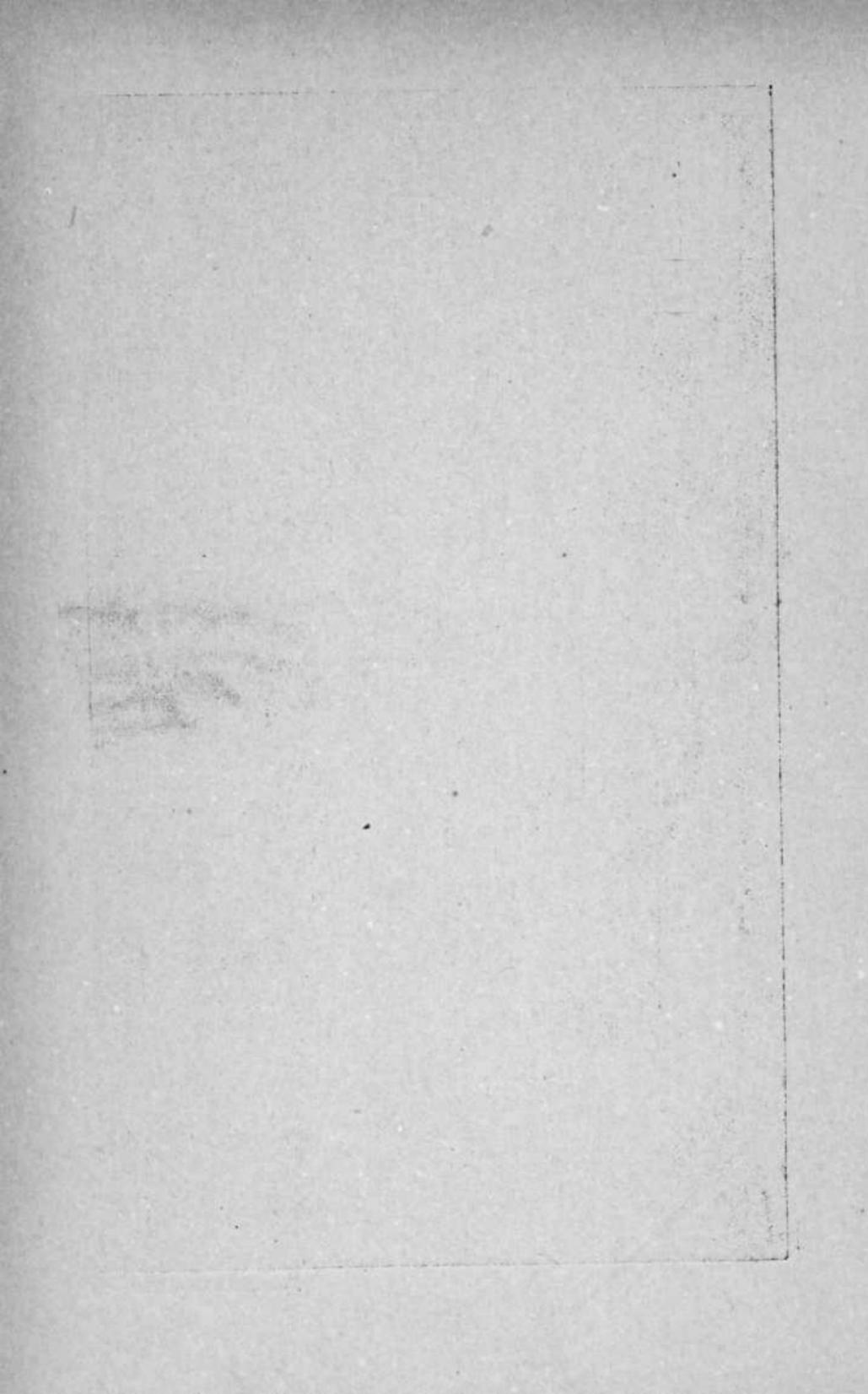
La primera cultura tiene el número cinco inferior para indicar que es el correspondiente al quinto dia de haberse hecho la cultura por punción.

天
8

PLANCHA II.



DR. DOMINGUEZ.

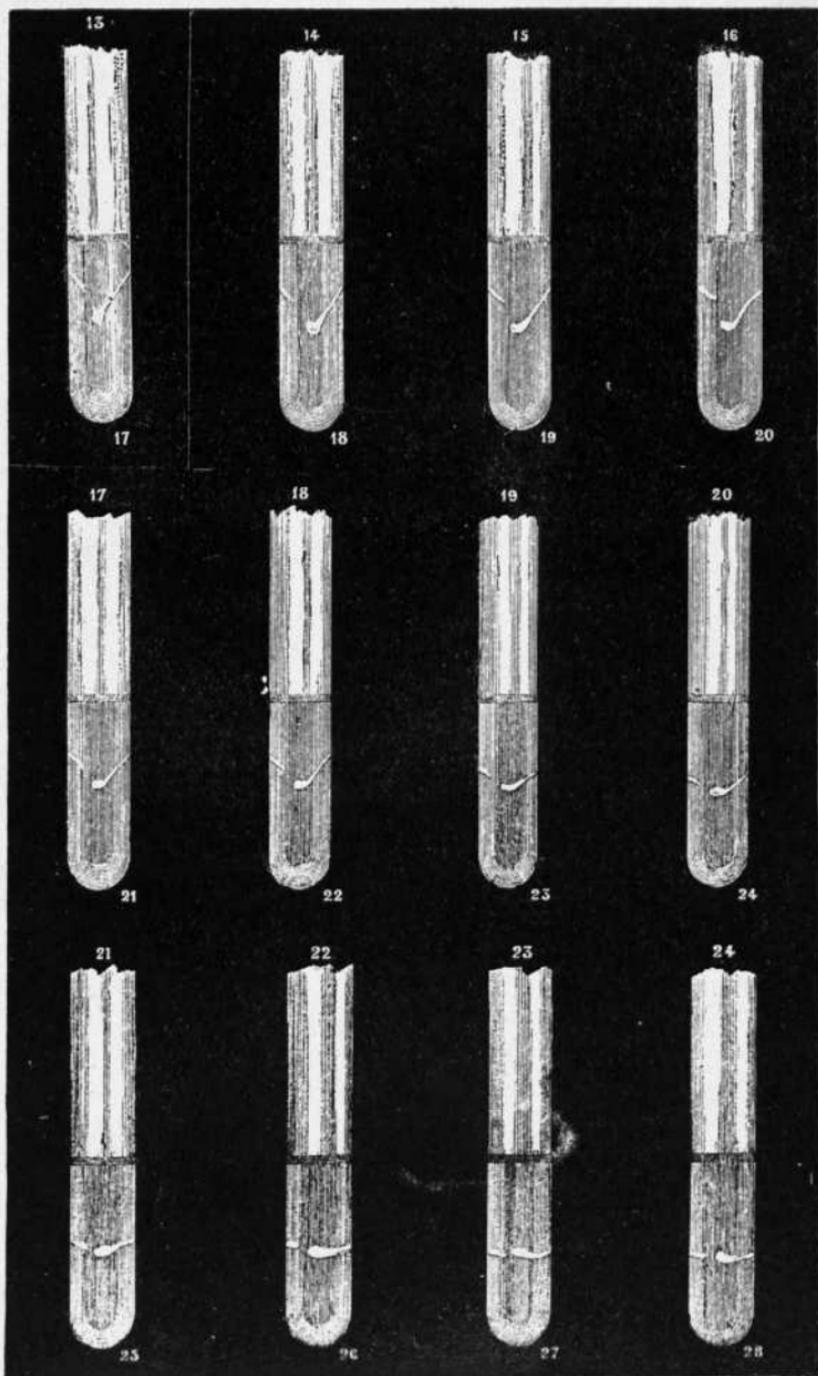


PLANCHA III.

EVOLUCIÓN EXTRAÑA DEL BACILO-COMA EN TUBOS DE GELATINA.

(Continuación de la *Plancha II*).

PLANCHA III.



DR. DOMINGUEZ.

PLANCHA IV.

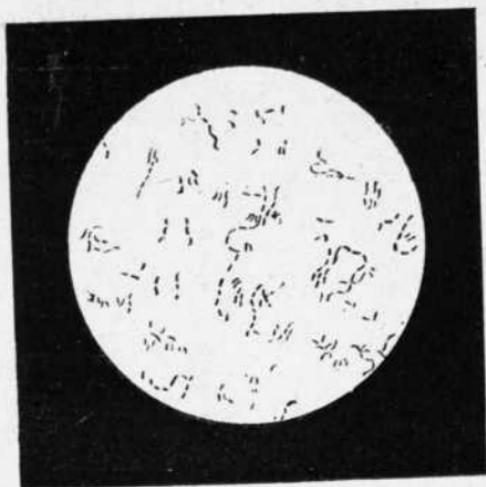
EVOLUCIÓN EXTRAÑA DEL BACILO-COMA.

FIGURA I.^a—Espirilos, ó cadenas de una colonia en placas de gelatina, á las cuarenta y ocho horas: (Igual aspecto en la primera aparición en cultivo de caldo).

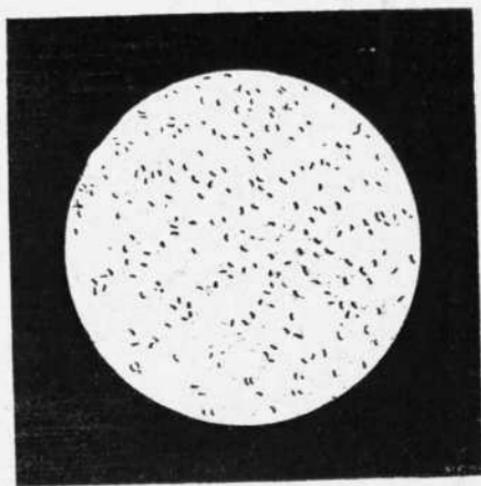
FIGURA II.^a—Bacilos-Comas resultantes de la misma colonia á los ocho dias. (Idéntico resultado en caldo).

PLANCHA IV.

1



2



DR. DOMINGUEZ.

PLANCHA V.

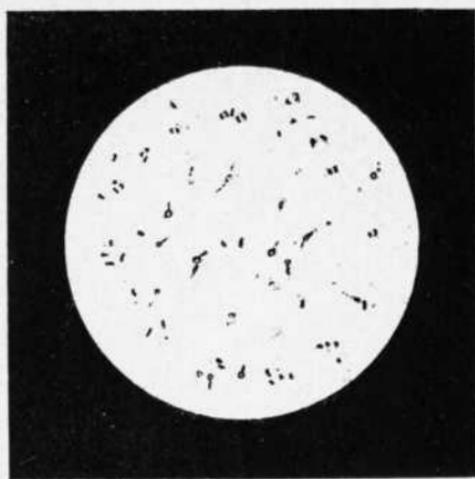
EVOLUCIÓN EXTRAÑA DEL BACILO-COMA.

FIGURA I.^a—Oosferas producidas en caldo nutritivo, en medio de comas.

FIGURA II.^a—Resultado del cultivo con el producto de la *Figura* I.^a en caldo.

PLANCHA V.

1



2

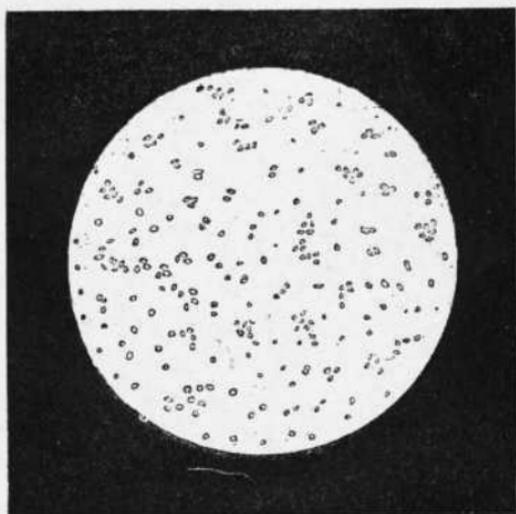


PLANCHA VI.

EVOLUCIÓN EXTRAÑA DEL BACILO-COMA.

Cuerpos ovoideos estériles resultantes en los cultivos de caldo: última fase evolutiva.

PLANCHA VI.



DR. DOMINGUEZ.



ÍNDICE.

	<u>Página.</u>
INTRODUCCIÓN..	
Importancia de la Bacteriología.	5
Historia..	10
Generación espontánea.	16
Bechamp..	20
Preesistencia de los gérmenes..	20
CAPÍTULO I.	
GENERALIDADES SOBRE EL CÓLERA..	23
Historia.	23
Koch y su doctrina.	27
CAPÍTULO II.	
IDEAS DE CONTROVERSIAS.	55
Finkler y Prior.	58
Emmerich.	64
Denecke.	67
Lewis..	69
Condiciones bacteriológicas.	71
CAPÍTULO III.	
MEDIOS DE ESTUDIO Y TÉCNICA.	73
Medios Líquidos..	74
Caldo..	74
Medios Sólidos.	76

Gelatina.	76
Agar-Agar.	77
Leche gelatina.	77
Papas.. . . .	78
Miga de pan.. . . .	79
Técnica.	79
Esterilización.	79
Material de trabajo.. . . .	80
Culturas.	83
Coloraciones.	86
Preparación y coloración de córtes.	87
CAPÍTULO IV.	
EVOLUCIÓN REGULAR DEL BACILO-COMA.	89
Caractéres microscópicos.	90
Colonias.	92
Evolución en tubos de gelatina.	95
En caldo.	98
Formas de involución.	99
Cólera experimental.	100
CAPÍTULO V.	
FENÓMENOS EXTRAÑOS EN LAS CULTURAS.	101
Deformación de la liquidación.	102
Reversión á su forma típica.	105
Periodo de transición.	107
CAPÍTULO VI.	
EVOLUCIÓN EXTRAÑA DEL BACILO-COMA.. . . .	109
Colonias.	111
Evolución en tubos de gelatina.	113
Diferencias.	120
CAPÍTULO VII.	
EVOLUCIÓN EN CALDO.	123
En Agar-Agar.	130
En Papas.	131

Resúmen del ciclo evolutivo.	132
CAPÍTULO VIII.	
COLONIAS DE ESPIRILOS.	135
Apreciaciones diversas.	137
Interpretación.	139
CAPÍTULO IX.	
CONCLUSIONES.	143
Atenuación natural del bacilo-coma.	146
Vacuna preservadora.	147
APENDICE.	151
EXPLICACIÓN DE LAS LÁMINAS.	154

FIN.

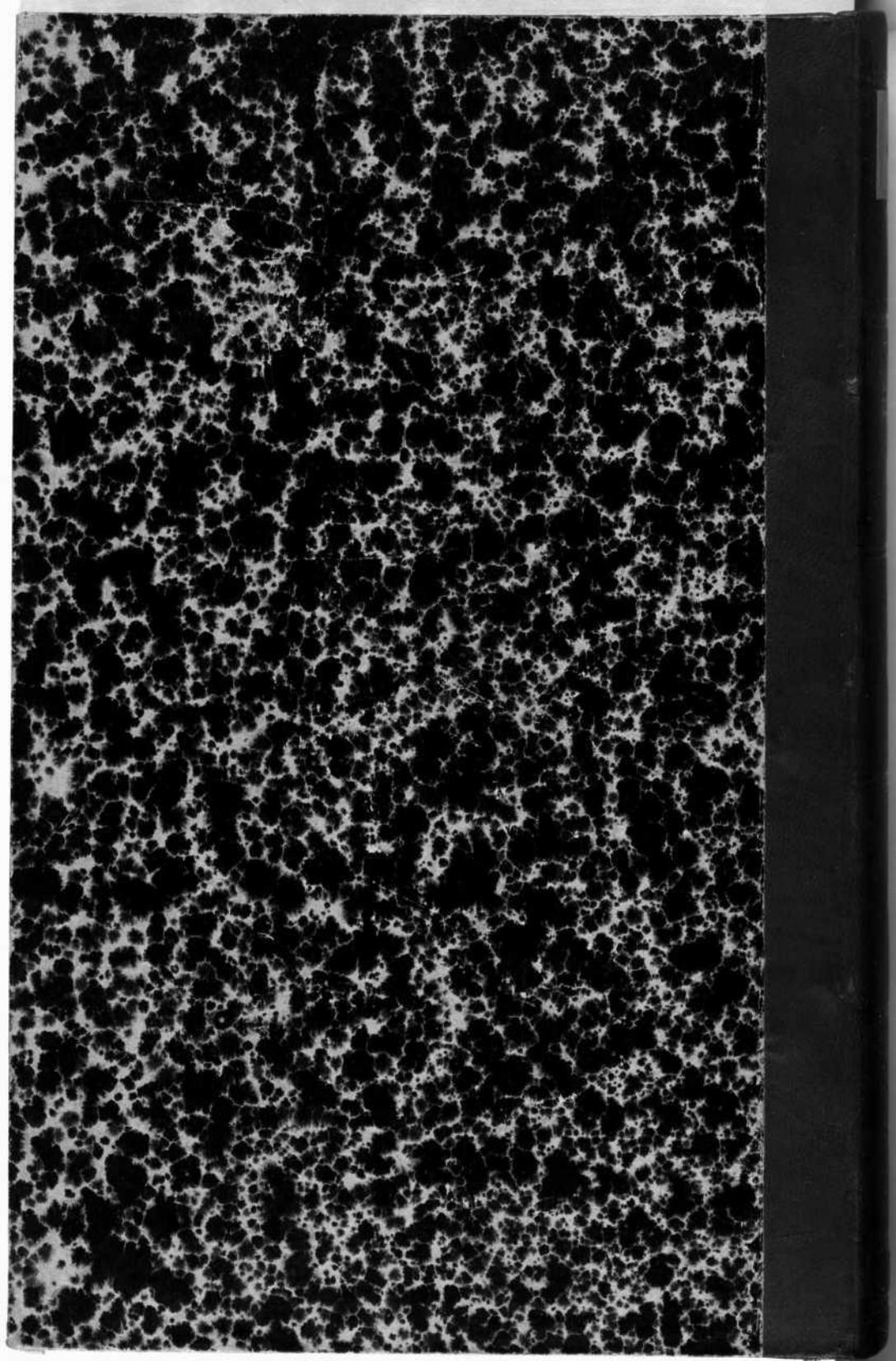
MARQUES DE SAN JUAN DE PIEDRAS ALBAS

BIBLIOTECA

Pesetas.

Número..	4110	Precio de la obra.....
Estante...	32	Precio de adquisición
Tabla...6		Valoración actual.....

Número de tomos..



4110.

BACILO
COMA