
BACTERIOLOGIA.

CONSIDERACIONES SOBRE EL CITOFAGISMO Y LA QUIMIOTAXIA.

Memoria presentada ante la Honorable Academia de Medicina para optar á la plaza
(de nueva creación) en la Sección de Bacteriología.

SEÑORES ACADÉMICOS:

L admirable descubrimiento de los seres infinitamente pequeños que tan poderoso impulso ha dado á las Ciencias Biológicas, y que ha venido á mostrarnos inmensos horizontes al rasgar el obscuro velo de las causas de los fenómenos de la fermentación y de la Etiología de las enfermedades infecciosas, ha sido el punto de partida de numerosas investigaciones, que ligándose estrechamente sin falta de eslabones, ha venido á formar en breve tiempo la nueva ciencia, ciencia de observación y experimental, la ciencia del presente y del porvenir; la Bacteriología.

Profundas y trascendentales han sido las conquistas de las ciencias médicas; el genio clínico ha penetrado en muchas direcciones el profundo arcano de la naturaleza humana y el conocimiento de los intrincados fenómenos patológicos ha llegado á un grado muy avanzado, á pesar de las hipotéticas teorías en que se fundaban sus investigaciones; pero el paso magno en la patología, ha sido dado en nuestros días, fundando sobre indestructibles bases una nueva ciencia, que presenta á nuestros sentidos con toda claridad, los íntimos fenómenos que pasan en nuestros tejidos y en nuestros humores, bajo el influjo de miríadas de seres tan pequeños como terribles.

Dos genios profundamente científicos; Pasteur y Koch, han dado á la ciencia este colosal impulso; séame permitido, al inaugurar con este trabajo la Sección de Bacteriología en la honorable Academia de Medicina, rendir un tributo de admiración á estos benefactores de la humanidad.

Un gran número de afecciones, sobre todo las infecciosas, están comprendidas actualmente en el gran grupo de las parasitarias, es decir: un

germen, una bacteria, un vibrión, una amiba, son la causa directa y siempre constante, del proceso patológico que en todas sus fases se desarrolla, simultáneamente con la evolución del micro-organismo productor del estado anormal.

Quién ignora hoy que son parasitarias: la Tuberculosis, la Lepra, el Carbón, la Difteria, la Neumonía, el Cólera asiático y el esporádico, la Malaria, la Fiebre tifoidea y la recurrente; y que los microbios producen también: la Pioemia, la Septicemia, la Fiebre puerperal, la Erisipela, la Bleonorragia, la Oftalmía purulenta, el Tracoma y otras muchas que sería cansado enumerar. Pues bien: hecha esta importante conquista se tiene ya como un hecho cierto, que la presencia de uno de los microbios específicos determina la afección, y en muchas de ellas, como por ejemplo la tuberculosis, lepra, neumonía, cólera asiático, la difteria, etc., etc., la presencia del microbio es el signo más firme, más seguro, y que se anticipa muchas veces á la penetración clínica, para demostrar la existencia de una de dichas afecciones.

En ciertas ocasiones no habrá premura para el diagnóstico que podrá ser hecho más ó menos tarde; pero y la Difteria, el terrible devastador de la infancia, cuánto no importa el descubrirla desde su principio; pues bien: puede determinarse antes de que los síntomas graves aparezcan, puede descubrirse mucho antes de que se tengan temores de difteria según los signos que se presentan y de este modo ponerse en guardia contra tan espantosa infección.

Tenemos pues hasta aquí señores, aclarada la Etiología de las enfermedades infecciosas, habiendo con esto desaparecido del cuadro nosológico el grupo de enfermedades esenciales; las causas predisponentes y determinantes, han cambiado en su modo de ser y la abstracción de ciertos procesos ha venido á concretarse en un hecho real, tangible, visible, y que se realiza en todos los casos.

La causa etiológica que se llamó: frío, humedad, pus, nutrición decadente, etc. . . . hoy se llama Microbio.

La ley quedó firmemente establecida. Toda fermentación, ya sea un desdoblamiento de sustancias orgánicas, ya la alteración de sustancias organizadas; llámese fermentación, putrefacción ó enfermedad infecciosa, todo en fin en esta serie de fenómenos es producido por un micro-organismo. La misma vida, en una grande escala, es producida por las bacterias. Ahí tenemos los *microbios nitrificantes*, preparando y transformando las sustancias orgánicas que debe absorber un vegetal por sus raíces; quitad á un

terreno riquísimo en abono, estos seres microscópicos que lo fermentan, colocad allí un grano ó una planta joven y el primero germinará mientras tenga albumen que consumir, después decaerá y cesará su desarrollo; la segunda se sostendrá con los elementos que toma de la atmósfera por sus órganos apendiculares aéreos, mas sólo por poco tiempo, después, siendo insuficientes estos alimentos se irá marchitando y morirá.

Veis pues señores, por esta rápida ojeada en el vastísimo dominio de la Bacteriología, la innegable importancia que ella tiene, pues que tantos fenómenos de la vida, han quedado subordinados á sus leyes.

Si se examina al microscopio un líquido orgánico en fermentación ó un tejido viniendo de un animal afectado de una enfermedad infecciosa, se descubren desde luego numerosos elementos de formas variadas, que no pertenecen ni al tejido, ni al líquido, que no forman parte integrante de ellos en el estado normal y que en general están animados de movimientos rapidísimos que les son propios: marchan siempre en una dirección y si tropiezan contra alguna celdilla se desvían de su camino y toman otra, siempre impelidas en línea recta. Estos seres son los microbios; ellos son los que presentándose por penetración en nuestro organismo, producen todas las perturbaciones, que la clínica y la histología patológica enumeran, por las substancias solubles que ellos elaboran, *ptomainas*, *leucomainas* ó *diastasas* ó sean *virus* en último resultado.

Cuando un animal es invadido por una pléyade de microbios, si este ser tiene condiciones para permitir el desarrollo del micro-organismo, este pulula, se propaga rápidamente, se posesiona de todo el organismo ó de una parte de él y produce la desorganización, altera las reacciones químicas en su provecho y determina una afección local ó una enfermedad general matando el organismo. Esto es en síntesis lo que caracteriza una enfermedad infecciosa.

Todos sabéis que la antisepcia ha venido á ser el gran elemento de la Higiene y de la Terapéutica modernas y que constituye hoy, la piedra angular de la Cirugía que si ha progresado á un grado increíble es debido á los antisépticos. Hay sin embargo enfermedades que no podemos combatir victoriosamente y sin nuestra intervención muchas de ellas encuentran su terapéutica viva, su profilaxia en el mismo organismo; es decir: el microbio que penetró en los tejidos ó en el torrente circulatorio es destruído por las celdillas de nuestros humores y de los tejidos y por consiguiente, *ó no se produce la afección ó es curada en su principio.*

Este hecho, ha sido ilustrado poco ha viniendo á aclarar el nitrin-

cado enigma de la *Inmunidad innata* ó estado refractario á la infección y el de la *Inmunidad adquirida* ó conferida por la vacunación. Estos dos importantes fenómenos, son hoy explicados de una manera evidente, por la notable teoría del sabio Metschnikoff, que la ha llamado del *Citofagismo*, calificando á las celdillas que desempeñan esta interesante función, de *fagocitos*.

Antes de presentar ante vosotros el cuadro de los fenómenos que pasan en nuestro organismo ó en el de los animales cuando las bacterias penetran, es preciso que cite algunos hechos experimentales en su mayor parte ajenos, y propios en escaso número, pues de ellos vereis deducirse sin esfuerzo, el resultado de la maravillosa lucha que se establece entre las celdillas de nuestro ser y los microbios invasores.

En todos los reinos de la Naturaleza viviente, se observa la lucha encarnizada por la vida y se ve siempre al ser más fuerte dominar y destruir al ser más débil. Esta lucha constante se observa de una manera notable en la flora y la fauna del mundo microscópico.

En una infusión orgánica, se desarrollan muchos animales unicelulares: infusorios flagelados y ciliados, amibas y rizópodes, que devoran en grandes cantidades, las bacterias que abundan en esas infusiones y que les proporcionan los elementos nutritivos para su conservación y reproducción. Es tan rápida esta destrucción, que pequenísimos *mónades* introducen en su protoplasma en corto tiempo, largos filamentos de leptotrix que sobrepasan en mucho la dimensión de la mónade.¹

Las mismas propiedades que los Protozoarios, tienen los seres que como las esponjas poseen muchas capas de tejido celular.

Este fenómeno de nutrición de los animales monocelulares, se verifica de la manera siguiente: un infusorio, una mónade ó las celdillas entodérmicas de la esponja, al ponerse en contacto con un corpúsculo (bacteria, espora, ó granulación) envía una pequeña prolongación y se aproxima al elemento exterior, lo aprisiona y poco á poco lo hace pasar al interior de su masa protoplasmática. En el interior de esta masa se hace la *digestión* y puede notarse la desorganización del elemento ingerido. A este fenómeno se ha llamado: *digestión intracelular*.

Esta manera de hacer la digestión la poseen un número inmenso de

1 Observación de Metschnikoff.

animales y entre ellos, todos los que pertenecen á las clases inferiores de los Metazoarios (Celenterados, Turbelarios, etc.), cuyas celdillas entodérmicas son las que desempeñan la función digestiva. En la serie de animales más elevados, la digestión es más perfecta, es una digestión extracelular ó diastásica (enzymótica); pero ciertas celdillas conservan la propiedad primitiva, siendo comparables á las amibas, que aprisionan los corpúsculos puestos en su contacto. Si bajo el *cuero objeto* se coloca una pequeña gota de una infusión orgánica conteniendo infusorios, amibas, etc., y se hacen penetrar, como lo he verificado, pequeñas granulaciones de almidón porfirizado á un grado muy elevado, se observa: cómo estas granulaciones son aprisionadas por la *amiba* y el *infusorio* y se les ve desaparecer en la masa protoplasmática que encierran; para convencerse de que los gránulos han sido ingeridos basta poner una gota de tintura de yodo, que colorando en azul intenso las celdillas feculentas, las hace distinguir en el interior del protozooario con brillante claridad. Esta reacción no se verifica si se procede igualmente sobre protozoarios que no han tomado gránulos feculentos.

Hay en los animales superiores, celdillas que realizan el fenómeno igualmente.

Ranvier, célebre histologista, ha demostrado: que la reabsorción de las fibras nerviosas mortificadas, se verifica por medio de celdillas amiboides que se incorporan la mielina y la destruyen. *De la misma manera los leucocitos* aprisionan la grasa ó el carmín pulverizado que se inyecta en el peritoneo de un mamífero.

Las metamorfosis de animales pertenecientes á una serie mucho más elevada que los protozoarios, dan un ejemplo aun más notable de esta reabsorción por intermedio de las celdillas. En los tritones al metamorfosearse en ranas, los músculos y los nervios de la cola, que va desapareciendo, son presa de celdillas amiboides que rodean estas fibras que conservan aún la estructura de hacecillos musculares normales.¹

M. Kowaleusky ha demostrado que en la metamorfosis de las moscas, la mayor parte de los tejidos de la larva son completamente devorados por los leucocitos que en gran cantidad se agrupan á su alrededor.

Los productos incorporados por los infusorios, amibas, etc., son digeridos, es decir: no se circunscriben á hacerlas pasar al interior de su protoplasma; sino que recobran sobre ellos por medio de sustancias diastásicas que transforman y desagregan los átomos de la sustancia orgánica, y

1. Metschnikoff.

la asimilan. En la tribu de los *Myxomycetos*, los plasmodios de estos organismos se presentan bajo la forma de gruesas agrupaciones protoplasmáticas que se prestan muy bien á la experimentación y según lo ha demostrado el célebre botánico De Bary,¹ estos incorporan las sustancias y en ellos se observa la disolución y destrucción, como pasa por ejemplo con el carmín que lo disuelven admirablemente. (El Didimiun.)

El jugo del plasmodio y su protoplasma, presentando una reacción alcalina, podría suponerse, que la modificación producida en el carmín, era debida á esta alcalinidad; Krukenberg para responder á esta objeción, emprendió algunas experiencias que dieron un resultado negativo, en el sentido de que no le fué posible demostrar en los *Mixomicetos*, una digestión de las materias albuminoides comparable á la que se opera por la tripsina. Haciendo este observador una infusión y después un extracto del *plasmodio del Aetaliun-septicum* y colocando en él fibrina, esta quedaba intacta mientras el medio era neutro ó alcalino; pero la digestión se verificaba cuando agregaba ácido clorhídrico ó láctico.

Dos observadores, Reinke en 1881 y Greenwood en 1886, confirmaron la presencia de la pepsina establecida y demostrada antes por Krukenberg; pero ellos supusieron que era producción inútil en los *Mixomicetos*.

Es bien difícil, como puede convencerse cualquiera que observe un plasmodio al microscopio, darse cuenta del fenómeno de su digestión, pues estando el protoplasma en constante movimiento y arrojando fuera de sí frecuentemente los cuerpos antes aprisionados (granulaciones vitelinas, glóbulos rojos, fragmentos de músculos) no puede seguirse la observación con regularidad. Metschnikoff con su talento investigador en esta clase de observaciones, recurrió á las celdillas del *Sclerotium rojo*, finamente pulverizadas, procediendo á colocar bajo el cubre objeto y en cámara húmeda algunos plasmodios y agregando polvos del *Sclerotium*. Después de varias horas pudo percibir todos los estados de disolución de las celdillas ábsorbidas las cuales cambiaban su color naranjado en amarillo y acababan por hacerse incoloras,² y como el protoplasma de los plasmodios, no se fusiona jamás, es evidente como lo hace notar Metschnikoff, que esto no se puede considerar más que como un acto de digestión intracelular de los cuerpos albuminoides.

Hasta hace muy poco se había aceptado como cierto que no existien-

1 De Bary. — *Mixomicetos y Bacterias*. 1884.

2 *Analés del Instituto Pasteur*.

do tripsina en ciertos infusorios la digestión de los corpúsculos ingeridos se verificaba por intermedio del protoplasma; pero experiencias ulteriores han venido á demostrar que en el interior de los plasmodios hay ciertos jugos que intervienen en esta digestión. El mismo experimentador citado ha colocado granos de *tornasol* y observado que los fragmentos ingeridos se ponían prontamente rojos. En este caso fué bien fácil asegurarse que la substancia se había modificado, pues haciendo llegar una gota de álcali volátil volvían al color violeta primitivo. Si sin agregar reactivo, se comprimía la lámina del cubre objeto, los plasmodios se desagregaban y se producía la coloración violeta bajo la influencia de las partes exteriores del plasmodio que son alcalinas. ¹

Resulta de ahí, lo que es muy importante para los fenómenos de Citofagismo que estudio y analizo: que en el interior del protoplasma de los plasmodios pueden secretarse líquidos ácidos á fin de formar un elemento propio para hacer la digestión con ayuda de la pepsina.

Esta experiencia tan concluyente bajo los dos puntos de vista del Citofagismo y de la Digestión intracelular, tuve la fortuna de repetirla con éxito en el Instituto Pasteur ² después de haberla presenciado en el Laboratorio de Microbia comparada, habiendo quedado convencido "de visu" de los interesantes fenómenos que presiden á esta función de las células, que da la más convincente explicación de la manera cómo se reabsorben los tejidos vivos ó muertos (Metamorfosis, necrobiosis, etc.), y de cómo son destruidas las bacterias en el interior de los *fagocitos*.

Un infusorio que se nutre principalmente de bacterias, la *Vorticella convalaria*, cambia de reacción luego que ha absorbido zoogleas alcalinas que prontamente se vuelven ácidas.

La digestión intracelular en otros seres microscópicos se verifica también en medios neutros lo cual ha sido probado por Greenwood en la *Amœba proteus*.

Estas observaciones que prueban que: *en los organismos inferiores se produce una digestión diastásica en un medio ácido*, han sido realizadas también en los fagocitos de los animales superiores. Si se corta la cola de un tritón y se frota la herida con tornasol azul pulverizado, se observa que los leucocitos uninucleares emigrados, han absorbido los granos azules y en su interior los han cambiado al rojo, bajo la influencia de los ácidos que

¹ Engelman ha hecho experiencias semejantes con otros infusorios, los Paramesianos y la Amiba "Difloens" llegando á las mismas conclusiones.

² Apuntes tomados de las Observaciones personales en el Instituto Pasteur. 1889.

en su protoplasma se producen. En estos macrófagos se ven granos azules al lado de los granos enrojecidos, los primeros acumulados en vacuolos lo cual indica que la producción ácida intracelular *puede quedar circunscrita en algunos puntos de la celdilla* solamente.

M. Roustizky ¹ ha hecho notar, que las celdillas gigantes de los huesos (osteoclastos) que tienen por función reabsorber el tejido huesoso dan una reacción ácida de su contenido.

Hemos visto hasta aquí, que en casi todas las experiencias han jugado un gran papel los elementos muertos siendo tomados por los fagocitos; pero esta función, que se circunscribía solamente á la reabsorción de los tejidos (experiencias fisiológicas y patológicas citadas) necrosados ó á la metamorfosis no tendría tan grande importancia si fuera sola la que presentaban las celdillas.

Ellas sirven de una manera importante, como medios de lucha del organismo contra los microbios llegados del exterior; á estas celdillas les ha llamado Metschnikoff *fagocitos*.

Antes de llegar al hombre, última etapa de nuestro estudio, veamos si la ley es general en todos los seres de la escala animal.

Un crustáceo de agua dulce, la *Daphnia*, está sujeta al paritismo de un hongo de la familia de las Levaduras *monospora bicuspidata*; los esporos de este hongo tienen la forma de largas agujas, lo cual facilita, al ser ingeridos con los alimentos, el que penetren al través de las paredes intestinales. Hasta aquí el hecho es muy común y habría quedado estéril si el genio observador del microbiologista antes citado no hubiera sorprendido el interesante fenómeno que se sigue. Luego que los esporos han entrado en los tejidos, los leucocitos entablan una lucha formidable contra aquel elemento extraño y aprisionan en su protoplasma, ya aislados, ya unidos á otros leucocitos, el *esporo* que pronto es transformado en una masa de informes granulaciones; sirviendo así de centinelas de la vida del animal y salvándole del mortal peligro á que estaba expuesto. No siempre la victoria es de los leucocitos, pues si no todos los esporos han sido destruidos, los que quedan libres germinan dando sus *coccidias* que invaden el cuerpo de la daphnia y terminan por matarla, pues aunque la lucha emprendida continúa con vigor, las coccidias multiplicándose con gran rapidez no pueden ser destruidas por los leucocitos los que no pueden desempeñar su admirable papel profiláctico.

Hemos llegado á los animales superiores; en ellos los fenómenos biológicos determinan siempre una complicación mayor de las funciones.

¹ Archivos de Virchow. 1874.

La función fagocítica no es peculiar á una sola especie de celdillas; sino que la desempeñan, las celdillas migradoras: los leucocitos de la linfa, los glóbulos blancos de la sangre y algunas celdillas de los tejidos. A las primeras, de núcleo lobado y múltiple, se les llama *micrófagos*; á las segundas: celdillas de tejido conjuntivo; celdillas epiteliales de los alveolos pulmonares, etc. . . . en fin todas aquellas que son susceptibles de aprisionar un microbio, que son fijas y tienen un núcleo único, se les llama *macrófagos*.

Luego que una lesión por pequeña que sea, se produce, ella provoca una acumulación de celdillas que concurriendo al lugar amenazado lo circunscriben y aprisionan y destruyen los elementos infecciosos venidos del exterior. Este fenómeno (el de la migración celular) es el que Conheim ha llamado *diapedesis* y que tiene por factores á las celdillas capaces de sufrir la migración. La lucha establecida viene á ser ayudada por los macrófagos, ó celdillas fijas citofágicas.

En ciertos casos el organismo sufre la infección microbiana, sin que sus celdillas entren en lucha con los microbios. Este hecho que á primera vista parece contradecir el fenómeno general, como constante y dependiente de una función especial, será explicado en el curso de este trabajo, al entrar en las consideraciones sobre los fenómenos quimiotácticos ó sea la *Quimiotaxia*, que en su acepción más abstracta, ha sido llamada estado microbicida y admirablemente apreciada por el Profesor Buchard, en su notable discurso pronunciado ante el Congreso Internacional de Berlín del presente año y calificado de eminentemente científico por el honorable miembro de esta Academia Dr. Carmona y Valle, quien tuvo la honra de representarla en ese Certamen de la Ciencia.

Como antes dije: en los casos en que el organismo no opone resistencia á la infección microbiana, la enfermedad se desarrolla con rapidez, y el animal coloso ante el microbio, muere vencido por este pigmeo más fuerte que él.

Bien sabido es, que no todos los animales son igualmente sensibles á la acción de un microbio y que en unos la enfermedad es general y produce la muerte, mientras que en otros, desarrolla sólo una afección local que cura. Pues bien: en los primeros, los micrófagos no obran en contra del microbio; este pulula, se desarrolla é invade todos los tejidos; en los segundos, se agrupan numerosas celdillas citofágicas que rodean el foco infectado y destruyen el microbio. Entonces se ven claramente á los leucocitos llenos de los microbios que han aprisionado. En los primeros (de en-

fermedad general) no hay por lo común lesión local apreciable, en los segundos la lesión local constituye el proceso en toda su circunscripción, y allí son apreciables los signos claros de inflamación, porque en ese lugar se entabló la lucha; allí concurren los micrófagos que han franqueado el paso á través de las paredes de los vasos de los tejidos próximos (diapedesis).

El hecho que parece fuera de la ley establecida se observa de una manera notable con el microbio del *Cólera de las gallinas*, que he podido estudiar personalmente. En las gallinas y en las palomas, no hay lesión circunscrita, la lesión es general y en cualquier punto del organismo en donde se tome una gota de sangre, se podrá ver el microbio específico y esta sangre ó el cultivo de los gérmenes que lleva será igualmente virulenta para un animal de la misma especie.

En los *Cuyos*, animales en que los micrófagos desempeñan su función profiláctica, la lesión es local y sin gravedad, el Citofagismo se verifica en toda su perfección y el microscopio descubre las celdillas especiales, llenas de microbios que pronto son destruidos.

En el *Carbón*, terrible enfermedad que ataca á muchos mamíferos, la lucha es casi nula, así como para el *tétanos*, la *septicemia*, la *fiebre puerperal*; en todo el organismo y principalmente en el bazo se encuentran las bacterias carbonosas (*bacillus anthracis*) libres; pero si el virus inoculado está atenuado, si se introduce la vacuna débil (núm. 1) obtenida por el método de Pasteur, Roux y Chamberland (acción del órgano y una temperatura de 42° en el cultivo), esta inoculación no produce el mismo efecto: un gran número de leucocitos se precipitan en este caso sobre las bacterias y las aprisionan, ya individualmente, ya entre varios fagocitos. Esta notable experiencia tuve la fortuna de presenciársela en el Instituto Pasteur.

El método seguido actualmente para demostrar la presencia de las bacterias dentro de los fagocitos es el siguiente: se coloca en la preparación sobre lámina, una gota de solución acuosa de Vesuvina, que no colorea las bacterias vivas; sino sólo las muertas, y como en este último estado se encuentran en el interior de los leucocitos, se destacan con una gran precisión rodeadas por el protoplasma celular.

Quiero citaros Señores, un hecho que no había sido explicado sino hasta que se descubrió el citofagismo y que tiene un gran alcance para e fin que me propongo.

(Continuará).