

**Criterio experimental y Método para la determinación
é investigación de los agentes causales de las enfermedades
infecto-contagiosas de los animales**

Por el profesor Dr. Federico Sivori

La determinación y la investigación de los agentes causales de las enfermedades infecciosas ó contagiosas de los animales, es la base fundamental para su estudio. Para que esa investigación dé resultados, es necesario efectuarla con método, poniendo á contribución todos los recursos de la experimentación.

Es necesario también un criterio experimental dentro del cual un agente causal determinado, quede demostrado que es realmente la *causa causans* de la enfermedad.

Como criterio experimental para demostrar que un microbio es el agente causal de una enfermedad, Koch ha establecido el siguiente, que se denomina los postulados de Koch:

1.º—El microbio debe ser encontrado en la sangre, la linfa ó los tejidos patológicos de un hombre ó de un animal enfermo ó muerto de la enfermedad.

2.º—Los microbios deben ser aislados de la sangre, de la linfa ó de los tejidos, y cultivados en medios convenientes fuera del cuerpo del animal. Estos cultivos puros deben continuarse por generaciones sucesivas del microbio.

3.º—Con un cultivo puro así obtenido se debe, por inoculación en el cuerpo del animal en buena salud, reproducir la enfermedad en cuestión.

4.º—En el animal inoculado se debe encontrar el mismo microbio.

Es indudable que llenadas estas condiciones por un microbio

dado, queda demostrado que es realmente la causa de la enfermedad.

Pero existen muchos agentes causales ó microbios, con los cuales no se han cumplido esas condiciones y son sin embargo cada uno de ellos causa de una enfermedad, y si no se han satisfecho con ellos los cuatro postulados de Koch, es que no han podido ser hasta ahora cultivados y por consiguiente cumplirse los postulados 2.º y 3.º

Estos microbios, protozoarios y *virus filtrables* ó *microbios invisibles*, son completamente diferentes de los que se conocían y tenía presente Koch al formular sus postulados, las bacteriaceas, que son en general de fácil cultivo.

Con los progresos de la técnica experimental se llegará á cultivar también esos protozoarios y virus filtrables, como se cultivan ya algunos tripanosomas, leucocitozoarios, virus, perineumonía, y entonces se cumplirán las condiciones del criterio experimental de Koch.

Por otra parte, se ha dado como causa de enfermedades á microbios que respondían á todos los postulados de Koch, según los trabajos de los autores, y sin embargo esos microbios no eran el verdadero agente causal de la enfermedad.

El error de Arloing con su *Pneumo-bacillus liquefaciens bovis*, el de Sanarelli con su *bacillus icteroides*, y el del *Hog-cholera* de Salmón, ó la *swine fever* de Klein, ó la *pneumo-enteritis infecciosa* de Cornil y Chantemesse, ó la *swinpest* de Selander, ó la *Schweinepest*, atribuidas al *bacillus suispestifer* de Preiz, ó la también titulada *Salmonellosis*, son errores clásicos que no deben olvidarse, puesto que encierran una gran enseñanza.

Arloing, en 1889, observa en los pulmones de los bovinos afectados de perineumonía contagiosa, entre otros, un microbio que aísla, cultiva en series continuas, y reproduce con ellos, dice, lesiones idénticas á las que originan los productos patológicos, la serosidad pulmonar; afirma además, haber extraído de esos cultivos un producto, la pneumo-bacilina, que serviría para el diagnóstico específico de la perineumonía contagiosa, como la tuberculina para la tuberculosis. Arloing ha dedicado numerosos trabajos al estudio completo de ese microbio, admitiendo haber demostrado que «el pneumo-bacillus liquefaciens bovis es bien el elemento vivo esencial del virus de la perineumonía contagiosa del buey» (Arloing).

La determinación de ese microbio como causa de la perineu-

monia contagiosa sería completa, se habrían cumplido las condiciones que sientan los postulados de Koch.

Según Arloing «el pneumo bacillus se encuentra en todos los pulmones enfermos» (1er postulado); se cultiva fuera del cuerpo y éstos se continúan en series (2.º postulado); con esos cultivos se producen las lesiones de donde procede (3er. postulado), y en éstas se encuentra el microbio inoculado (4.º postulado). A pesar de esto, ese microbio no es la causa de la perineumonía contagiosa, ésta es debida, como lo han demostrado Nocard y Roux en 1898, á un *virus filtrable*, á un microbio sumamente pequeño que pasa á través de ciertos filtros (Berkefeld y Chamberland F.) y completamente diferente del microbio de Arloing.

Sanarelli, en 1897, cree demostrar que la fiebre amarilla es debida á un microbio que denomina *bacillus icteriodes*.

Encuentra ese microbio en la sangre de personas enfermas, en la sangre, pulmón, hígado y bazo de los muertos de fiebre amarilla (1er. postulado); cultiva al estado puro y en serie continua al microbio aislado (2.º postulado); reproduce con esos cultivos, en el *perro*, lesiones típicas amarilligenas y en el hombre los síntomas de la enfermedad con las toxinas del microbio (3er. postulado); de las lesiones típicas del perro aísla el microbio inoculado (4.º postulado), y para que la demostración de la especificidad del *bacillus icteriodes* fuera aún más completa, Sanarelli prepara con ese microbio un suero que sería curativo y preventivo para la fiebre amarilla del hombre.

A pesar de tal cúmulo de trabajo hecho al rededor del *bacillus icteriodes*, ese microbio no era la causa real de la fiebre amarilla. Desde 1901 el verdadero agente causal ha sido puesto en evidencia por Agramonte, Reed, Carrol y Lazear, que demuestran se trata de un *virus filtrable*, vehiculizado por un mosquito—la *Stegomyia fasciata*, hecho que fué confirmado por Marchoux, Salimbeni y Simond en el Brasil, en el mismo terreno en que Sanarelli estudió la enfermedad.

Salmon, en 1886, describe el Hog-cholera y da como causa un microbio parecido al *coli*, á ese microbio común y vulgar del intestino, intermediario más bien entre éste y el Eberth ó tífico.

El microbio de Salmón, el bacillus suipestiper de Preiz, fué aceptado como causa del Hog-cholera, por todos los autores que estudiaron esa enfermedad de los cerdos en América ó análogas en Europa, y respondía según los trabajos de Klein, Sal-

mon, Cornil y Chantemesse, Selander, Schultz, Bang, Preiz, Karlinsky, por no citar sino los principales, á los cuatro postulados de Koch.

A ese microbio se le encontraba en la sangre y los tejidos de los cerdos muertos de Hog-cholera (primer postulado), se le ha aislado y cultivado en serie (segundo postulado), con esos cultivos se reproducía la enfermedad y hasta las lesiones características del intestino (tercer postulado), en los muertos de la enfermedad así reproducida se encontraba el microbio (cuarto postulado) y aún algunos autores é institutos bacteriológicos prepararon con ese microbio, un suero que decían curativo y preventivo de la enfermedad.

Tantos trabajos y tantas experiencias parecían no dejar lugar á duda ninguna, de que ese microbio era la causa de la enfermedad, y tan se le creía demostrado que sirvió de tipo para una denominación especial—salmonella—y á la enfermedad causada por él—salmonellosis (Ligniéres).

Pero Schweinitz y Dorset en Norte América, han demostrado que el Hog-cholera, no es originado por el bacilo Salmón, y que el agente real, es un *virus filtrable*, descubrimiento confirmado por Hatyra en Hungría, por Ostertag en Alemania, por Mac-Fadyean en Inglaterra, y por Carré, Leclainche y Vallée en Francia.

A estos errores podrían agregarse muchos otros, pues en la historia de casi todas las enfermedades se encuentran algunos, de microbios que han sido dados como causa de enfermedades y que estudios posteriores han demostrado no ser ellos la verdadera causa; pero ó son simples observaciones ó afirmaciones ó trabajos incompletos, que no encuadran dentro de un exacto determinismo, ó no se les ha aplicado el criterio de Koch.

Entre nosotros se ha creado toda una serie de Pasteurellosis (Lignieres) y de entre ellas, ninguna más interesante bajo el punto de vista que nos ocupa que la titulada Pasteurellosis canina, ó enfermedad de los perros jóvenes ó mejor dicho la peste canina.

En 1900 el señor Ligniéres describe como causa de la peste canina á un microbio del grupo de las septicemias hemorrágicas de Huppe, microbio que encuentra en los tejidos de los enfermos y muertos de esa afección (primer postulado), lo aísla y cultiva en serie (segundo postulado), con los cultivos repro-

duce la enfermedad (tercer postulado), y se encuentra en los muertos en este caso, al microbio inoculado (cuarto postulado), explica por las propiedades del microbio la etiología y la patogenia hasta la acción favorable á la evolución letal de la enfermedad del frío y de las lluvias frías, y también la acción deprimente del microbio que facilita las infecciones secundarias como las del *cocco-bacillus fætidus ozema* al que el doctor Fernando Pérez atribuye el ozema del hombre.

El señor Lignieres y más tarde Phisalix, preparan con ese microbio una vacuna que inmunizaría á los perros contra la peste canina.

La Pasteurellosis canina ha sido aceptada y se encuentra como tal descrita en algunos textos clásicos, y sin embargo, no es causa de la enfermedad el microbio descrito por el señor Lignières; la causa real, el verdadero agente patógeno, es un *virus filtrable* como lo ha demostrado Carré en 1905. No hay tal Pasteurellosis canina, el microbio que el señor Lignières daba como causa de ella, — la Pasteurellosis canina, — es un microbio vulgar, huesped frecuente de las mucosidades nasales de los perros sanos, como el microbio del doctor Pérez, simples agentes de infecciones secundarias cuando más, como el *coccus* de Mathis, que pululan á favor de la acción deprimente de las defensas naturales del organismo que motiva el verdadero agente patógeno, el virus de Carré.

A este error del señor Lignieres, puede agregarse otro error del mismo, el señor Lignieres atribuye al microbio titulado Pasteurella equina «todas las afecciones típicas del caballo», y entre otras la «anemia perniciosa progresiva», que Carré y Vallée han demostrado no es debida á tal Pasteurella y que el agente causal verdadero es un *virus filtrable*.

Cabe preguntar: ¿cómo es posible se hayan cometido tantos errores en la determinación é investigación de los agentes causales de las enfermedades contagiosas?, y ¿cómo es posible que esos errores se admitieran y repitieran durante tanto tiempo?

Fácil es contestar á lo último, se han admitido tantos errores porque en la ciencia, aún hoy, se admiten muchas cosas, sin someterlas previamente al severo contralor de una buena crítica experimental, y se han repetido, porque el contralor se hace sólo en las mismas condiciones en que se ha cometido el error y lo importante es variar algunas de las condiciones.

Se han admitido, repetido y aún divulgado muchos errores.

porque se encuentran en los textos clásicos y sus autores los han admitido por la sencilla razón de que no han contralorado, ni aún bien meditado, lo que en ellos se encuentra, circunstancia que da á los textos por más autoridad que tengan sus autores, un valor muy relativo.

Se han admitido también muchos errores, porque los trabajos en que se han cometido, procedían de personas que tenían como se dice autoridad científica; lo que indica que no hay que olvidar las palabras de Renan: «que me importan las sílabas insignificantes de su nombre», ni las de Claudio Bernard, que decía: que la ciencia es impersonal y que «un nombre no agrega gran cosa á un descubrimiento», es decir, que en ciencia no hay autoridad, la única autoridad son los hechos bien determinados, y que no deben admitirse los *juicios* sin el contralor previo de los *hechos* en que se fundan

A la pregunta de ¿cómo se han cometido tantos errores? se puede contestar, que las causas de esos errores son múltiples, y que no hay una que los explique á todos.

Al principio de las investigaciones microbiológicas, después de los trabajos de Pasteur, que en 1863, demostró que en los líquidos y tejidos de los animales sanos no existían microbios; cada vez que se comprobaba la existencia de un microbio en los tejidos de un animal muerto de una enfermedad infecciosa ó contagiosa, se le atribuía el papel de agente causal, sobre todo si se le cultivaba é inoculaba y resultaba patógeno para algunos animales, aunque fueran especies diferentes al afectado por la enfermedad en las condiciones naturales. Contribuía á afirmar ese criterio la teoría aceptada en general hasta hace poco tiempo, que la sola presencia del microbio era suficiente para constituir la enfermedad, que su acción lo explicaba todo, desde la etiología hasta la patogenia, y que el organismo era comparable á un recipiente de cultivo; siendo el fenómeno biológico de la enfermedad infecciosa ó contagiosa, todo lo contrario, un fenómeno en donde hay siempre dos factores en lucha, un organismo que se defiende contra un ser que lo invade.

Muchas simples observaciones de la presencia de microbios en los tejidos de animales muertos de enfermedad infecciosa ó contagiosa, han quedado como descubrimientos del agente patógeno de muchas enfermedades, y bastaría citar la primera en fecha, la del bacilo del carbunco por Rayer y Davaine en 1850, pero en muchos otros casos, se han dado como agentes

patógenos á microbios banales, ó á microbios de infecciones secundarias, ó á microbios que han invadido el organismo en el período agónico ó *post mortem*.

Estos errores de los primeros tiempos, se explican sobre todo por la ausencia de una buena técnica y por la falta de un criterio experimental en la determinación de las condiciones de esos fenómenos nuevos.

Los errores que hemos citado y denominado clásicos, no son pasibles de la anterior explicación, ya existía una buena técnica y un criterio experimental.

El error de Arloing es el resultado sin embargo, de una falta de técnica y de una mala interpretación.

Arloing, observa la existencia y obtiene cultivos de su microbio sobre todo de «la serosidad que sale del corte del pulmón, bajo la influencia del raspado» (Arloing). Procedimiento defectuoso puesto que recae así, un líquido mezcla, á la vez de serosidad de los linfáticos interlobulares, del contenido de los alveolos, y aún de los pequeños bronquiolos, que contienen, por consiguiente microbios que proceden de esas diversas partes, entre los que existen los microbios que son huéspedes normales del pulmón.

Además, cabía dudar de que un microbio obtenido solo ó conjuntamente con otros en esas condiciones, fuera realmente la causa de la perineumonía contagiosa, puesto que Pasteur en 1883, había demostrado que la serosidad obtenida asépticamente de los espacios linfáticos interlobulares, era virulenta, y no daba desarrollo de ningún germen cultivado en caldo de ternera ó de pollo, hecho que confirma el mismo Arloing «los cultivos son casi seguramente negativos si son sembrados con la serosidad que se aspira minuciosamente de la profundidad de las lesiones con una pipeta afilada» (Arloing).

La mala interpretación reside en que Arloing, creyó obtener con su pneumo-bacillus liquefaciens bovis, lesiones idénticas á las que origina la serosidad perineumónica pura ó el virus. Hay sin duda, semejanza, según lo refiere Arloing en sus experiencias, entre esas lesiones, pero no identidad.

Este error de Arloing enseña que una falta al parecer nimia en un detalle de técnica, origina un gran error que puede motivar una gran pérdida de tiempo en un trabajo sin resultado para el fin que se persigue, salvo el de conocer un microbio más y algunas de sus particularidades; enseña también que se debe

mantener la duda, hasta agotar todos los recursos de la experimentación, antes de atribuir un papel patógeno primordial y esencial á un microbio que se aísla de los pulmones.

En los errores cometidos con el bacillus icteroides, con el bacillus suipestifer y con el más reciente de la peste canina, sino hay defectos de técnica, hay en todos la mala interpretación de que se ha creído reproducir la enfermedad con el microbio aislado.

De todo lo expuesto se deduce también:

1.º—Que no basta observar, aislar y cultivar de los líquidos ó tejidos de personas ó animales muertos de una enfermedad infecciosa ó contagiosa, un microbio-bacteriacea-patógeno para muchas especies animales y aún para la misma especie de la cual se obtuvo, para atribuirle el papel de agente causal.

2.º—Que aún no basta, para considerarlo tal, producir con él lesiones semejantes á las que se observan en la enfermedad contraída en las condiciones naturales.

3.º—Porque se puede llegar á producir, especialmente con microbios muy diferentes, síntomas ó lesiones que si no son idénticas, son tan semejantes que llegan hasta á ser confundidas en ciertos momentos.

Estos errores clásicos, enseñan también que no debe olvidarse de repetir la importante *experiencia de la filtración* de los *líquidos virulentos*, que Pasteur practicó por primera vez (1) en 1877 con la sangre carbunclosa y con los cultivos del bacilo del carbunco, para destruir la hipótesis que el carbunco fuera debido á un fermento soluble ó á un virus existente en la sangre, pues son simples experiencias de filtración las que han puesto en evidencia la existencia del *virus filtrable* como agentes patógenos de la perineumonía contagiosa de los bovinos, de la fiebre amarilla, del Hog-cholera, de la peste canina y de muchas otras enfermedades. (Fiebre aftosa, peste aviaria, peste equina ú horse-sickness, clavelee, peste bovina, dengue, molluscum de las aves, molluscum contagioso, agalaxia y fiebre catarral ovina, etc.).

La frecuencia de la mala interpretación, que se cree reproducir la enfermedad con cultivos de un microbio que se ha aislado, indica que lo primero que debe hacerse para la investigación del

(1) Esta experiencia había sido hecha por primera vez por Klebe y Tiegel en 1871 según Strauss.

agente causal y su determinación, es reproducir la enfermedad, repetir lo que se hacía antes de la era microscópica, lo que se hizo con el carbunco en 1823.

En el cuadro siguiente se encuentra expuesto el criterio experimental y los métodos para la investigación de los agentes causales.

A—Reproducción de la enfermedad:

- 1.º—En animales de la misma especie que la afectada.
- 2.º—En animales de especie diferente.
 - a) con la sangre de animales enfermos.
 - b) con la sangre de animales recientemente muertos.
 - c) con la sangre ó suero de la sangre ó líquidos patológicos de animales enfermos ó muy recientemente muertos, filtrados á través de bujía, Berkefeld, Chamberland y Kitasato.
 - d) con líquidos patológicos, con triturado de órganos ó con triturado ó fragmentos de lesiones localizadas.

B—Examen microscópico de la sangre de animales enfermos:

- 1.º—Examen de sangre fresca.
- 2.º—Examen de sangre fijada y coloreada.
Thionina, Laveran—Mesnil, Giensa.

C—Examen microscópico de la sangre y frotis de todos los órganos de animales muy recientemente muertos.

- 1.º—Coloración, Gram—Nicolle, Thionina—Laveran—Mesnil—Giensa.

D—Examen microscópico de productos patológicos de lesiones específicas ó localizadas.

- 1.º—Examen de los productos frescos—sin coloración.
- 2.º—Examen de los productos fijados y coloreados—
Gram — Nicolle — Thionina — Kuhne — Borrel — Giensa.

E—Aislamiento y cultivo del agente causal.

- 1.º—Cultivos aerobios.
- 2.º—Cultivos anaerobios.
- 3.º—Cultivos en medios especiales (agar-sangre, etc.).
- 4.º—Cultivos en vivo (sacos de collodiun ó membrana interna de fragmentos de caña).

F—Reproducir la enfermedad con un cultivo de una serie continua ó con los animales, insectos, arácnidos ú otros que vehiculizan el agente causal.

- 1.º—En animales de la misma especie que la afectada.
- 2.º—En animales de especie diferente.
- 3.º—Observar el agente causal en los animales que lo vehiculizan.

G—Repetir B, C, D y F, en los animales que contraigan la enfermedad en las condiciones que se indican en F.

H—Preparar una vacuna que innumice ó un suero que innumice ó cure la enfermedad adquirida en las condiciones naturales.

I—Investigar si se produce *aglutinación* del agente causal aislado por el suero de un animal que presenta ó ha curado de la enfermedad adquirida en las condiciones naturales.

J—Investigar si se produce *desviación del complemento*, sirviéndose como antígeno del agente causal aislado y como *immunsuerum* de un animal curado de la enfermedad ó que presenta la enfermedad adquirida en las condiciones naturales.

Hemos dicho al principio, que se conocen ó existen microbios ó virus filtrables que son los verdaderos agentes causales de enfermedades, y que sin embargo no responden á todos los postulados de Koch, y que en cambio, otros microbios que respondían según los autores, á todos los postulados, no eran los verdaderos agentes patógenos de la enfermedad, y la razón es muy sencilla: aquéllos cumplen con la condición fundamental del criterio experimental, *reproducen la enfermedad*, y éstos otros no la producen; circunstancia y razones que indican que lo primero que debe hacerse para la determinación de los agentes causales de las enfermedades infecciosas ó contagiosas ó microbianas de los animales, es *reproducir la enfermedad*.

Junio 22 de 1910.