

Génesis y evolución de los postulados de Koch y su relación con la fitopatología. Una revisión

Genesis and evolution of Koch postulates and their relationship with phytopathology. A review

Charles Volcy¹

RESUMEN

Robert Koch, médico alemán, es señalado como uno de los pioneros de la microbiología y de la bacteriología médica. Durante el apogeo del ántrax y de la tuberculosis en el Viejo Mundo en el siglo XIX, desarrolló la teoría microbiana de la enfermedad que planteaba que las enfermedades infecciosas son de origen microbiano y, de paso, elaboró un revolucionario protocolo experimental –los postulados de Koch– con el fin de establecer cuándo un microbio putativo es la condición necesaria y suficiente para ocasionar una patología cualquiera. Esta reseña pretendió revelar las raíces de dicha teoría que se remontan a la Edad Media, su esencia, su lucha con otras doctrinas, las numerosas y genuinas experimentaciones que se anticiparon a dicha teoría y su relación con el desarrollo de la fitopatología. Se analizaron las limitaciones de la versión original y algunas de las enmiendas propuestas desde la década del treinta hasta la era de las herramientas moleculares, y se dedujo finalmente que los postulados de Koch han superado la prueba del tiempo, gracias a su consistencia, su estabilidad, su coherencia conceptual y el uso del razonamiento lógico.

Palabras clave: enfermedad, orígenes, ántrax, tuberculosis, azafrán, protocolo experimental.

ABSTRACT

Robert Koch, German physician, is known as one of the pioneers of microbiology and medical bacteriology. During the prevalence of anthrax and tuberculosis in the Old World in the 19th century, he developed the germ disease theory that states that infectious diseases are caused by microorganisms. In doing that, he also developed a revolutionary experimental protocol – Koch postulates – in order to establish whether a microbe is in necessary and sufficient condition to cause a given disease. This review discusses the roots of his theory, with origins in the Middle Ages, its essence, its antagonists, the numerous and genius experiments that anticipated the given theory and their relationship with the development of plant pathology. The limitations of the original version of the postulates are discussed, along with the amendments proposed since the 30's to today era of molecular tools. It is deducted that, due to its consistency, stability, conceptual coherence, and logical reasoning, Koch postulates have withstood the test of time.

Key words: diseases, origins, anthrax, tuberculosis, saffron, experimental protocol.

Introducción

El año 1882 representa una fecha crucial en la historia de la microbiología y de la patología: el médico alemán Robert Koch, mediante estudios sobre la etiología de la tuberculosis, había sepultado la teoría espontánea de la vida o abiogénesis, según la cual los seres vivos aparecían de repente en la materia orgánica. En cambio, había demostrado experimentalmente que la tuberculosis era una enfermedad infecciosa y bacteriana al igual que el ántrax –tema de sus estudios precedentes–. Después de perfeccionar la técnica bacteriológica en cuanto a los medios de cultivo e inoculación, proclamó, el 24 de marzo de 1882, ante la Sociedad de Fisiología de Berlín, que pudo llegar a esta conclusión gracias a un protocolo experimental que de ahora en adelante se iba a denominar “los postulados de Koch” (Gröschel, 1982).

Los apelativos y las denominaciones pueden enmascarar algunos acontecimientos históricos y no reflejan siempre su evolución natural y cronológica, dado que los descubrimientos suelen ser a menudo el producto acumulado de eventos, ensayos y errores recogidos por científicos que están separados por el tiempo y por el espacio. De otra parte, hay que señalar que la teoría microbiana de la enfermedad plasmada en los postulados de Koch había sido insinuada siglos atrás, a menudo de manera especulativa y empírica, y que eclosionó en el momento justo caracterizado por la liberación ideológica, las crisis religiosas y el surgimiento de la era de la experimentación bajo condiciones controladas, en reemplazo de los discursos teóricos y apriorismos.

Esta reseña pretendió ahondar en el análisis histórico de la causa de la enfermedad antes de Koch, resaltar los nombres de los pioneros sobresalientes de la era prekochiana, explo-

Fecha de recepción: septiembre 30 de 2007. Aceptado para publicación: abril 9 de 2008

¹ Profesor titular (r), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín. cvolcy@unalmed.edu.co

rar el origen de los postulados de este científico y su relación con la antigua fitopatología y señalar su vigencia mediante la aplicación de nuevos criterios metodológicos o de modernas herramientas moleculares. Así, se dará continuidad a la labor de rescate y de difusión del rol de la fitopatología en la génesis de la teoría del germen de la enfermedad, algo que ha estado enmascarado por la ciencia médica.

Los postulados de Koch

En su versión más sencilla, dichos postulados contemplan cuatro enunciados –tres en la versión original– que, acompañados de la experimentación, ayudan a resolver la cuestión de la causa de las enfermedades. En primer lugar, plantean la necesidad de la asociación constante de un agente biótico con el hospedero enfermo, para proceder luego a su aislamiento, su caracterización y su cultivo *in vitro* en ausencia de otros microorganismos (Barnes, 2000; Carter, 1985; Falcone, 1999; Fredricks y Relman, 1996; Grimes, 2006; Keitt, 1959). Una vez lograda esta segunda fase bajo condiciones axénicas, la inoculación de un hospedero sano con los propágulos de este microorganismo (células, esporas, etc.) debe reproducir y desencadenar el mismo cuadro patológico inicial, es decir, el mismo síndrome de la enfermedad con su típica sintomatología y alteraciones en el hospedero y, finalmente, los dos aislamientos del agente biótico –el natural y el cultivado– deben coincidir en sus rasgos morfológicos y biológicos relevantes.

Lo anterior corresponde a la interpretación del siguiente fragmento original de Koch sobre la tuberculosis: “Para demostrar que la tuberculosis es una enfermedad parasítica, es decir causada por la invasión de los bacilos, es necesario aislarlos del cuerpo, multiplicarlos en cultivos puros hasta que estén libres de cualquier producto mórbido del animal sobre el cual están adheridos, inyectar los bacilos aislados a animales y reproducir la misma condición mórbida conocida a partir del material tuberculoso original...” (Fredricks y Relman, 1996). De una forma similar, se había expresado sobre la etiología del ántrax (Koch, 1876).

En síntesis, son cuatro los elementos críticos en este proceso probatorio: asociación específica del microorganismo putativo con la enfermedad; concordancia científica entre las evidencias microbiológicas, patológicas y clínicas; su aislamiento en medios de cultivo artificiales y, finalmente, la reproducción de la enfermedad por inoculación del organismo cultivado en un hospedero sano (Fredricks y Relman, 1996).

Bajo esta óptica, los postulados de Koch descansan sobre la premisa “una causa - una enfermedad”, corresponden

al modelo unitario de etiología microbiana (Gradmann, 2004), se resumen con las expresiones “sí y solamente sí” (Barnes, 2000) o *causa vera sine qua non* (Carter, 1985) que indican que existe una causa real o verdadera de un evento sin la cual dicho evento no ocurre (Barnes, 2000; Carter, 1985) o mediante la ecuación $A + B = C$, donde A es el organismo que manifestará la enfermedad, B el agente causal o patógeno y C la enfermedad resultante de la interacción (Mountain, 2002).

Consecuencias de la edificación de los postulados de Koch

Los postulados de Koch, comparables por sus efectos a un tsunami científico, derrumbaron la teoría espontánea de la vida y todas aquellas equivocadas tesis relacionadas con el origen de las enfermedades (Coury, 1967; English, 1985; Horsfall y Dimond, 1959; Kaufmann, 2003) y se convirtieron en el soporte experimental de la emergente teoría microbiana de la enfermedad o teoría del germen.

Una de las afectadas fue la teoría punitiva, demoníaca o mágico-religiosa que corresponde a la formulación elemental de las civilizaciones primitivas para intentar explicar muchos eventos naturales malignos, como las enfermedades y las catástrofes climáticas, entre otras (Cohen, 1953; Coury, 1967; Feezer, 1921). En este contexto, se decía que las enfermedades eran castigo de los dioses en respuesta a la transgresión de las normas culturales, morales o ecológicas, y que se desvanecían mediante encantamientos, sortilegios, rituales, oraciones al cielo y sacrificios de animales, todo con el fin de aplacar la ira de tales dioses. Esta percepción estuvo también profundamente anclada en la agricultura. En el pasado lejano, la intrusión de las fuerzas intangibles, misteriosas y maléficas en los cultivos podía “neutralizarse” con barreras vivas compuestas de terneros y cerdos, y las mujeres que estaban en periodo menstrual debían alejarse de los sembrados por el supuesto efecto nocivo de su “mal de ojo” (Orlob, 1973). Igualmente, los babilonios rendían culto a dioses para proteger sus cultivos de cebada de las enfermedades fungosas “samana” y “mehru”, y las festividades Robigalia y Floralia de la antigua agricultura romana fueron concebidas en honor a los dioses protectores Robigus y Flora, respectivamente (Horsfall y Dimond, 1959; Keitt, 1959; Orlob, 1973).

Otra tesis que se debilitó fue la teoría humoral, conocida en los tiempos de Hipócrates y dominante en la Edad Media (Coury, 1967; English, 1985; Feezer, 1921). Esta recalca el equilibrio de los humores o líquidos corporales (sangre, flema, bilis amarilla y bilis negra) para gozar de buena

salud y, por ende, su desequilibrio para enfermarse. Esta teoría endógena o de causas internas estaba basada en la acumulación de la materia maligna o *materia peccans* que, al no poder ser liberada por las vías naturales, debía ser extraída por otros procedimientos, como la trepanación –que consistía en abrir un hueco en el cráneo del enfermo– y las sesiones de sangría (Cohen, 1953). De otro lado, aquella teoría fue incorporada sutilmente en la patología vegetal, sobre todo en la agricultura de la India, puesto que allí se hacía referencia a enfermedades internas causadas por la bilis y relacionadas con el exceso de sustancias frías o dulces y las causadas por la flema y sustancias agrias o saladas (Orlob, 1973).

Hubo otras teorías que sucumbieron ante las evidencias aportadas por los postulados de Koch. La miasmática concibió el origen de la enfermedad en el aire malsano, la putrefacción y los gases liberados (miasmas) por la materia orgánica en descomposición y fue uno de los sólidos argumentos para explicar las pandemias de peste negra, cólera, fiebre amarilla y malaria (Feezer, 1921; Halliday, 2002; Molgaard y Brodine, 1992; Quevedo, 2000; Summers, 2000), del mismo modo que se creyó que la roya de los cereales provenía de los vapores de los ríos y pantanos y que la gota de la papa (“el cólera de la papa”) era por el humo de las locomotoras o por la electricidad atmosférica (Large, 1940). Así mismo, el añublo foliar del manzano, apodado “ántrax de árboles frutales”, era atribuido a fenómenos eléctricos, puesto que “aparecía de manera súbita unos pocos días después de violentas tempestades, debido a explosiones eléctricas” (Baker, 1971), y la quemazón foliar por infección de royas llegó a relacionarse con la acción de los rayos solares que actuaban como “lentes cáusticas” o “vidrios ardientes” (Delaporte, 1997).

A principios del siglo XX, se intentó dar unas confusas interpretaciones fisiológicas de enfermedades de plantas, tales como subproducción o sobreproducción de alguna enzima (Reynolds, 1918), o congelamiento de la savia por el frío del otoño o del invierno (Baker, 1971). Lindley, profesor de botánica, insinuó, en la polémica sobre la causa de la gota de la papa, que era debida a una acumulación excesiva de agua o de savia en los tejidos a raíz de una disminución en su tasa de transpiración (Large, 1940), lo que podía corregirse con punzones a intervalos específicos en los puntos de crecimiento en los tallos (Keitt, 1959). Igualmente, el profesor de fisiología vegetal –Unger– interpretaba las enfermedades de las plantas como desorganización de los tejidos internos y los microorganismos allí presentes como productos secundarios (Keitt, 1959), opinión que difiere poco de la de Virchow –defensor de la teoría de la patología

celular– quien afirmó que la enfermedad era el resultado de cambios químicos o físicos en la célula y, por lo tanto, una reacción del cuerpo (English, 1985; Grimes, 2006).

Por lo expuesto, se presume que la aceptación de la teoría infecciosa condujo a una lucha encarnada por el prestigio de los filósofos, médicos e instituciones que enarbolaban banderas diferentes. En concreto, tuvo que enfrentarse al control hegemónico de la Iglesia, a las posiciones de Galeno, de Thomas Syderman “el Hipócrates inglés”, de Max von Pettenkofer, de Samuel Hahnemann y del médico patólogo Virchow –con su dominante tesis celular desde 1860–. En el terreno agrícola, como lo señalan varios autores (Keitt, 1959; Paulin, Ridé y Prunier, 2001), sus mayores contradictores fueron los autogenetistas Unger y Justus von Liebig y Alfred Fischer, profesor emérito de botánica, quien negaba el rol de las bacterias como patógenas de plantas, con el argumento de que no encuentran nutrientes en los espacios intercelulares por lo que viven como saprófitos secundarios a expensas de las lesiones provocadas por los hongos –únicos patógenos de las plantas–. En resumen, el dominio final de la Ley de Koch fue construido por etapas o fases a lo largo de varios siglos.

Fase intuitiva

Girolamo Fracastoro, médico y humanista italiano, esbozó en su documento “*Syphilis sive morbi gallici*” que la sífilis podía diseminarse de una persona a otra, al menos por *seminaria* (DeLacy y Cain, 1995; Howard-Jones, 1977; Nutton, 1983), aunque no se apartó del todo de las causas astrológicas. De acuerdo con la mayoría de los historiadores médicos, hacía alusión a las “semillas” de la enfermedad, es decir, a microbios o seres vivientes, pero en opinión de Howard-Jones (1977), Fracastoro creía en la generación espontánea, en el papel de las constelaciones para producir contagio y en animales míticos (*catablepha*) con poder para matar a distancia. Coincidiendo con DeLacy y Cain (1995), Howard-Jones (1977) afirma además que el significado de *seminaria* en el contexto medieval era ambiguo, ya que podía ser “partículas contagiosas activas, catalizadores químicos; espíritus, partículas imperceptibles duras o viscosas y aun sustancias emanadas de las frutas cítricas, de los metales o de la piritita”.

El naturalista médico y alquimista medieval conocido como Paracelso se suma a la lista de los primeros contradictores de la teoría humoral de Hipócrates y de Galeno (Pirog, 2000). Elaboró una compleja teoría química sobre la etiología de las enfermedades, según la cual el estado físico de la materia descansa sobre tres elementos creativos: la

sal, el azufre y el mercurio. Cada individuo tiene su tríada específica, y la enfermedad es el resultado del desajuste entre estos principios.

Otros influyentes personajes que se adhirieron tímidamente a la muy incipiente visión microbiana fueron Robert Boyle y Thomas Sydenham: el primero, con su teoría corpuscular, y el segundo, con su teoría de partículas morbíficas (Keele, 1974). Para Boyle, los corpúsculos responsables de la enfermedad son imperceptibles a simple vista, sufren metástasis y son el resultado de la combinación de efluvios subterráneos (Keele, 1974). De modo similar “el Hipócrates inglés” se refería a las partículas mórbidas presentes en la atmósfera y comparaba las enfermedades con una planta, puesto que ambas nacen, crecen y maduran (Keele, 1974).

En el siglo XVIII, se popularizó la llamada doctrina *contagium animatum*, *contagium vivum* o *exanthemata viva*, tesis que asocia las enfermedades con agentes infecciosos animados, casi siempre pequeños y microscópicos (animálculos), aunque todavía, como en los casos anteriores, bajo la influencia de la corriente miasmática. Por ejemplo, el jesuita metafísico alemán Athanasius Kircher observó “gusanos” microscópicos en la sangre de personas afectadas por la plaga (bubónica) y asoció esta enfermedad con efluvios, es decir, con miasmas “compuestos por diminutos e imperceptibles seres vivientes” (Doetsch, 1964), y Giovanni María Lancisi, prominente médico italiano a servicio del papa Clemente XI, afirmó que “uno de los componentes de la enfermedad era orgánico y que estaba integrado por multitud de gusanos y huevos que flotan en la atmósfera” (Wainwright, 2003). Con esta misma percepción se pronunciaron el médico Benjamin Marten y Daniel Drake, prestigioso profesor de medicina en Ohio (Estados Unidos) (Doetsch, 1965). No obstante esta presunción, muy pocos se referían a la especificidad de los animálculos para causar enfermedades, excepto William Oliver (Doetsch, 1964), Marko Anton Plenčič (Marcus Plenciz) (Stropnik, 2002) y John Nyander (DeLacy y Cain, 1995).

Antesala experimental

La fase de transición hacia la verdadera teoría microbiana fue dominada por John Snow, Philip Ignaz Semmelweis, Friedrich Jacob Henle y Edwin Klebs, quienes le concedieron mayor importancia a la práctica y a los procedimientos experimentales que a las conjeturas.

A raíz de la segunda pandemia de cólera entre 1829 y 1851 que tuvo un gran impacto en Inglaterra, el médico anestesiólogo Snow acopió datos estadísticos que le permitieron

validar una hipótesis sobre el modo de diseminación de esta enfermedad a través del agua contaminada, rechazando de plano la tesis de los factores predisponentes, como el mal aire (Halliday, 2002; Smith, 2002). Sin embargo, el médico inglés William Budd había insistido antes que el cólera era causado por un organismo vivo, aunque el italiano Filippo Pacini fue quien observó por vez primera la bacteria *Vibrio cholerae* en las descargas de los enfermos coléricos, 35 años antes que Robert Koch (Wainwright, 2003).

Por su parte, el médico húngaro Semmelweis contribuyó a dilucidar la etiología de la fatal enfermedad llamada fiebre puerperal, causada por la bacteria *Streptococcus pyogenes* (Kübler, 2003; Wainwright, 2003). A partir de un análisis más estadístico que experimental, pudo concluir que la tasa de mortalidad de las parturientas en el hospital de Viena entre 1846 y 1847 estaba relacionada con la suciedad de las manos de los estudiantes y médicos que habían practicado la autopsia de pacientes muertas y que, por lo tanto, habían transmitido las “partículas cadavéricas” de las parturientas fallecidas a las parturientas sanas.

Al parecer, Henle y Klebs fueron quienes más influyeron sobre la posición científica de Koch (Fredricks y Relman, 1996). Para el médico alemán Henle, anatomista y patólogo, la causa de la enfermedad provenía del reino vegetal, era transportada a grandes distancias por corrientes de aire y la enfermedad en sí era el resultado de la reproducción de este extraño contagio en el cuerpo (Wainwright, 2003). Al respecto, decía lo siguiente: “Se puede probar empíricamente que (los organismos) son realmente efectivos solamente si se pueden aislar los organismos contagiosos de los fluidos contagiosos, con el fin de observar la potencia de cada uno por separado” (Fredricks y Relman, 1996).

Finalmente, Klebs, discípulo de Virchow, reclamó la sujeción a un protocolo casi idéntico al de Koch, que comprendía el estudio microscópico de los órganos afectados, la caracterización, identificación y cultivo del germen asociado exclusivamente con el evento patológico y, finalmente, la producción de la misma enfermedad mediante la inoculación del germen cultivado en animales sanos (Fredricks y Relman, 1996; Grimes, 2006). Para concluir, con los llamados postulados de Loeffler de 1883 que son una réplica de los anteriores (Grimes, 2006), se conformó una sólida tripleta de argumentos en defensa de la naciente teoría del germen.

Genuinas primicias prekochianas

Fueron al menos cinco las investigaciones claves y genuinas, separadas casi por dos siglos y que conforman el bloque

denominado “primicias de la patología prekochiana”, con un aporte relevante de la patología vegetal y el esclarecimiento de la etiología fungosa de tres enfermedades en azafrán, trigo y papa.

La sarna del cuero cabelludo es la primera enfermedad cuyo estudio etiológico se ciñó al método científico, con formulación y verificación experimental de una hipótesis, en parte, gracias al descubrimiento y la observación de bacterias por Antón van Leeuwenhoek, en 1683. Cuatro años más tarde, se demostró el carácter contagioso de esta enfermedad que estaba ligada a la presencia del ácaro *Sarcoptes scabiei*, mas no a una afección de los humores, mezcla de sangre, atrabilis y pituita o presagio de la lepra (Jannier, 1994; Ramos-e-Silva, 1998). En 1687, dos investigadores extrajeron el ácaro del cuero cabelludo de individuos con sarna, lo observaron al microscopio y aportaron una información adecuada sobre su anatomía. Esta teoría parasitaria, si bien incompleta en su protocolo experimental por la ausencia de la fase de la reproducción artificial de la enfermedad, fue reforzada en 1834 por el estudiante de medicina Simon François Renucci en su tesis de grado, aunque cometió la misma omisión que sus predecesores.

La comprobación del carácter parasitario de la muerte del azafrán se acerca aún más a los postulados de Koch y es considerada por Rاپilly (2001) como el verdadero comienzo de la formulación de los protocolos experimentales en la patología, a pesar de la desafortunada omisión de que ha sido objeto en la historia de las ciencias biológicas. Para ello, Duhamel du Monceau (1728) formuló sin rodeos la noción de agente patógeno, luego de un proceso de investigación ordenado y analítico. Recurrió sin éxito a consultas bibliográficas y a entrevistas con los cultivadores de esta planta, para luego pasar a la fase experimental, en la cual recopiló información de campo acerca del progreso y la sintomatología de la enfermedad. En los tejidos infectados descubrió cuerpos globosos (¿esclerocios?) de un color rojo oscuro parecidos a trufas y delgados filamentos violáceos que surcan caminos debajo del tegumento, por lo que concluyó que el agente causal era una planta parásita de nombre “Tuberoideos”. Igualmente, pudo reproducir la enfermedad en lirio, narciso y tulipán, sembrados en suelo virgen que, una vez inoculado con el putativo hongo, recobró los mismos filamentos violáceos.

A su turno, el carbón hediondo del trigo, verdadero flagelo en el pasado, atrajo la atención de Mathieu du Tillet y de Isaac - Bénédicte Prévost. Du Tillet concibió en 1755 un protocolo experimental con 120 parcelas, siete tratamien-

tos de semilla, seis fechas de siembra y cinco modalidades de abonamiento y concluyó, por un lado, que el polvillo negro era contagioso a pesar de no haber hallado las esporas del hongo (Rapilly, 2001) y, por otro lado, que el “veneno” causante podía ser controlado parcialmente mediante un “antídoto” como el sulfato de cobre (Keitt, 1959). Sin embargo, Prévost, al cabo de diez años de experimentación controlada, publicó en 1807 unas memorias donde aportó detalles acerca del proceso de germinación de unos “glóbulos” microscópicos hallados en las semillas de trigo, del protocolo para multiplicarlos en cultivo puro y del uso del polvillo como material de inoculación a plantas sanas. De acuerdo con Keitt, Prévost concluyó que la causa “inmediata” de esta enfermedad era una planta microscópica del “género de los uredos” o de un “género estrechamente relacionado” perteneciente a la categoría de parásito interno.

Más tarde, Agostino María Bassi indagó acerca del origen y la cura de la enfermedad denominada “muscardina, mal segno, calcinaccio, calcino o calcinetto” que amenazaba la próspera industria de gusano de seda en Italia y Francia (Porter, 1973; Summers, 2000). Después de varios años de fracasos, observó cómo un gusano de seda sano se había enfermado a partir del contacto con otro animal que había muerto y que la florescencia blanca (“calcino”) que se había formado sobre los gusanos muertos era un hongo designado inicialmente *Botrytis bassiana* en su honor y finalmente *Beauveria bassiana*. Hizo público su hallazgo con una demostración en la Universidad de Pavía en 1834 y en dos monografías publicadas en 1835 y 1836 (Porter, 1973).

Otro destacado aporte de la fitopatología fue el estudio etiológico de la gota de la papa a raíz de su primera migración de Norteamérica al Viejo Mundo en la década de 1840, que causó la hambruna de Irlanda (Keitt, 1959; Large, 1940; Scholthof, 2003). El doctor John Lindley, eminente y prestigioso profesor de botánica, afirmaba que la epidemia habría sido causada por la combinación de factores ambientales únicos, sin negar la presencia de un hongo, el cual, a su modo de ver, era un producto secundario aparecido de manera espontánea. Refutaba así a Joseph Berkeley, experto micólogo inglés, quien creía en cambio que la epidemia de gota era causada por un hongo parecido a *Botrytis infestans* (Keitt, 1959; Moura, 2002; Rapilly, 2001). En opinión de estos investigadores, la prueba final que selló la controversia a favor de Berkeley y de su antecesor, el alemán Von Martius, fue aportada por Anton de Bary, quien mediante pruebas experimentales en la década de 1860 pudo reproducir la enfermedad en hojas y tubérculos y demostró los mecanismos de diseminación del hongo a través del agua.

Al lado de Duhamel y Prévost, se conformó la trilogía de los primeros investigadores en demostrar el carácter patógeno de los hongos en las plantas.

En cuanto a la fitobacteriología (Baker, 1971; Kennedy, Widin y Baker, 1979; Paulin, Ridé y Prunier, 2001, Théodoridès, 1966), hubo también reportes relevantes entre 1845 y 1879, en los que se aplicó al menos una de las etapas de dichos postulados: la necrosis de la pera por *Erwinia amylovora*, las pudriciones por *Pectobacterium*, la gomosis de la caña de azúcar por *Xanthomonas campestris* pv. *vasculorum* y las infecciones de granos de trigo por *E. rhapontici*. No obstante, la primera gran contribución de la bacteriología estuvo a cargo del médico francés Casimir Davaine, a través de sus estudios sobre la etiología del ántrax que publicó entre 1863 y 1880 (Théodoridès, 1966), lo que refutó su trasfondo religioso y bíblico (Hawley, 2001).

En su publicación de 1863, informó de la muerte fulminante de dos conejos y de una rata que habían sido inoculados con la sangre de una oveja fallecida por una infección de “charbon malin”, “carbunco” o ántrax y describió las bacterias aisladas de la sangre infectada como “filamentos rectos, muy delgados, inflexibles, cilíndricos, y no móviles” (Théodoridès, 1966). Años más tarde, enfatizó sobre la necesidad de separar la bacteria por filtración y sobre el uso experimental de placenta, demostró que dicha bacteria perdía su virulencia y que dejaba de ser infecciosa si se calentaba la sangre fresca a una temperatura de 52 °C durante cinco minutos, mas no en sangre seca y calentada a 100 °C. Finalmente, en 1869, es decir trece años antes de la investigación definitiva de Koch, pudo establecer el agente patógeno del ántrax sobre un grupo de cobayos inoculados, teniendo otro grupo como testigo (Théodoridès, 1966).

Limitaciones y revisiones de los postulados de Koch

A pesar de ser una herramienta útil en el estudio etiológico de las enfermedades, el protocolo de Koch no puede ser aplicado siempre con el rigor requerido cuando se trata de patógenos obligados que no crecen en medios sintéticos de laboratorio. Para neutralizar esta percepción dogmática, Rivers (1937) sugirió adoptar dos criterios para demostrar la causalidad entre virus y enfermedades en humanos: la asociación del virus específico con la enfermedad con cierta *regularidad*, y su presencia *no* accidental en un individuo enfermo. Por lo tanto, desechó los criterios de propagación en medios de cultivo y la cuestión de la asociación *permanente* del virus, y propuso a la vez distintos procedimientos para el logro

de su protocolo experimental. Otros investigadores propusieron criterios epidemiológicos de causalidad, al enfatizar sobre el grado de asociación, su consistencia, su especificidad, su temporalidad, su gradiente biológico, su coherencia y su verosimilitud (Fredricks y Relman, 1996).

La reciente propuesta de Inglis (2007) contempla cuatro pilares para la definición de la etiología de las enfermedades: “congruencia” entre la presencia del patógeno y los rasgos clínicos, patológicos y epidemiológicos, “consistencia” de las respuestas biológicas del hospedero a la introducción del presunto patógeno, “disonancia acumulativa” expresada en una serie progresiva de cambios a cualquier nivel de la organización biológica del hospedero infectado y “reducción”, entendida como el aborto del proceso infectivo en respuesta a la eliminación o remoción del patógeno candidato. En cambio, otros autores combinan criterios epidemiológicos con criterios microbiológicos (Molgaard y Brodine, 1992).

Otras debilidades de los postulados se originaron por no tener en cuenta las infecciones latentes, silenciosas o subclínicas (Fredricks y Relman, 1996; Hayward, 1974; Verhoeff, 1974) y la cuestión de la dosis infecciosa (Théodoridès, 1966). Hayward (1974) y Verhoeff (1974) analizaron en detalle los casos de infecciones latentes de bacterias y hongos en las plantas, respectivamente, y aportaron diferentes hipótesis para explicar el fenómeno. A su turno, Davaine, en sus experimentaciones sobre el ántrax, inoculó cobayos con sangre “antrácica” diluida a diferentes concentraciones (Théodoridès, 1966), con lo que resaltó la importancia de la dosis infecciosa, aspecto aparentemente no estudiado por Koch.

La fitopatología ha debido generar nuevos conceptos para enriquecer y adaptar la versión original de los postulados de Koch. En este sentido, Bos (1981, 1976) dividió el proceso de diagnóstico de virus de plantas en “mandamientos” que van desde los “datos del paciente” (rango de hospedero, sintomatología, distribución e incidencia de la enfermedad) hasta la etiología (inoculación o injertos en serie, persistencia de la infectividad en la savia, microscopía electrónica, propiedades fisicoquímicas), para luego contemplar cuatro postulados (Bos, 1981): a) la asociación o concomitancia del virus con la enfermedad, b) su aislamiento de la planta enferma para separarlo de los contaminantes, multiplicarlo sobre una planta indicadora y conocer sus características fisico-químicas, c) su inoculación en plantas sanas para reproducir la enfermedad y d) su reaislamiento de las plantas experimentales inoculadas.

Respecto de los fitonematodos, la demostración formal de su patogenicidad se hizo realidad tan solo a partir de la

segunda mitad del siglo pasado y, al parecer, el estudio de la asociación de *Pratylenchus* en tabaco marcó esta nueva era y fue posible gracias al desarrollo del medio de cultivo de White, que permitía la obtención de poblaciones del nematodo bajo condiciones estériles (Mountain, 2002) y, luego, por la producción de nematodos axénicos y su valoración pictórica de daños en plantas. Ahora, el proceso probatorio de una nematosis se rige de cierto modo por los siguientes parámetros: a) observación clínica del problema, b) identificación y multiplicación de fitonematodos sobre plantas indicadoras sembradas en suelo esterilizado, c) pruebas de bioensayo, evaluación de daños y reasamiento del nematodo. Así, se abandona la antigua metodología que consistía en comparar la población de nematodos y el rendimiento de plantas en lotes tratados con nematicidas y en lotes no tratados (Allen, 1960), aunque esta última fase se asimila a uno de los principios etiológicos de Inglis (2007).

Finalmente, existen propuestas de “postulados” para el diagnóstico de patógenos “emergentes” como protozoos, fitoplasmas y bacterias rickettsioides. Por ejemplo, para el protozoo flagelado *Phytomonas*, Dollet (1984) sugiere que su diagnóstico podría basarse en un cultivo puro del organismo, su introducción en insectos sanos y criados en el laboratorio y la inoculación final de los insectos infectados a plantas obtenidas de semillas. A su turno, la enfermedad de Pierce y otras enfermedades causadas por rickettsias se diagnosticaron a partir de los criterios señalados por Hopkins (1977) y, para los fitoplasmas, se recurre a las herramientas moleculares (Lee *et al.*, 1995).

En efecto, la visión molecular ha tenido una fuerte acogida tanto en la fitopatología como en las disciplinas médicas (Falcone, 1999; Falkow, 2004; Fredricks y Relman, 1996; Hall y Lemoine, 1991) y ha sido adoptada para el diagnóstico de infinidad de patógenos de plantas, como pseudohongos del reino Chromista (*Phytophthora*, *Pythium*), verdaderos hongos (*Mycosphaerella*, *Fusarium*, *Phaeoisariopsis*, *Rhizoctonia*), bacterias (*Ralstonia*, *Erwinia*), virus y nematodos (*Meloidogyne*, *Radopholus*, *Rotylenchulus*). Por ejemplo, Morales y colaboradores (2001) establecieron una relación de identidad superior al 97% entre un potyvirus aislado de plantas de maracuyá y aislamientos del mosaico de la soya (SMV) y, de acuerdo con el diagnóstico molecular realizado por Ángel *et al.* (2001), existen dos razas del virus del síndrome de la hoja amarilla de la caña de azúcar en Colombia.

En resumen, el diagrama de flujo general para una versión molecular de los postulados de Koch contemplaría los siguientes pasos: a) extracción del ácido nucléico del patógeno de hospederos enfermos, mas no de los sanos,

b) su amplificación, clonación y secuenciación, c) pruebas de patogenicidad sobre hospederos sanos y evaluación con base en la ausencia o poca presencia de las copias de las secuencias del ácido nucléico del presunto patógeno o disminución de las copias de la secuencia de este patógeno en los hospederos infectados y tratados (Fredricks y Relman, 1996). Es útil para el diagnóstico de patógenos con gran diversidad morfológica y genética o que producen síntomas idénticos, pero se debilita cuando la taxonomía se basa en numerosos marcadores fenotípicos estables.

No obstante el aporte de estas técnicas, el estudio etiológico de las enfermedades infecciosas de las plantas no ha renunciado al uso de los métodos tradicionales basados en marcadores fenotípicos, histopatológicos, serológicos y ecológicos y, al contrario, propende hacia la complementariedad de los dos enfoques. La investigación de Lee *et al.* (1995) ilustra a cabalidad lo beneficioso del uso de marcadores complementarios, y señala, entre otras, que no basta recopilar información sobre el genoma de un fitoplasma, si la supuesta relación de causalidad de que es responsable carece de sentido ecológico y si dicha relación no es creíble.

Los postulados de Koch. Esencia filosófica y vigencia

Koch se ciñó a los tipos de conocimiento llamados experimental o científico y crítico o reflexivo cuando mejoró los métodos de cultivo y de tinción bacteriana y cuando se apoyó en la microfotografía, amén de la defensa de sus postulados en el documento final de 1890. Como lo expuso Münch (2003), su contribución recae sobre dos pilares: uno experimental y otro hermenéutico-analítico. La fase experimental incluyó la recolección de materiales biológicos, el análisis estadístico del evento patológico y su manipulación en condiciones *in vitro*. La fase hermenéutica abarcó el análisis de la información en su contexto ecológico y social con el fin de extraer deducciones lógicas por analogía.

Entre líneas, definió la causa como una condición o un evento que produce efectos y, como lo analizó Carter (1985), empleó dos reglas de la lógica durante la elaboración de sus postulados: la necesidad y la suficiencia. Un factor X es suficiente para un evento A si su presencia asegura la ocurrencia del evento; y es necesario, si el evento A no ocurre en su ausencia. Dicho de otro modo, una causa es necesaria si el efecto no sucede en su ausencia, y es suficiente si dicho efecto ocurre con su presencia estando o no presentes otros factores. Esta combinación de criterios parece ser uno de sus mayores aciertos (Carter, 1985).

Recientes investigaciones biomédicas reafirman la validez de dicho protocolo. Para identificar el agente etiológico de la neumonía atípica o síndrome agudo respiratorio severo (SARS), Fouchier *et al.* (2003) aplicaron los criterios requeridos para el diagnóstico de enfermedades virales propuestos por Rivers hace más de seis décadas. Así mismo y a pesar de las controversias, existen criterios análogos a los postulados de Koch para afirmar que el VIH es necesario y suficiente para desarrollar el sida (Harden, 1992), incluso tales protocolos pueden ser útiles en el estudio de la relación de las toxinas ambientales y las enfermedades en humanos (Fredricks y Relman, 1996). En otras palabras, el método científico no es estático, evoluciona con el tiempo, descansa sobre principios hipotético-deductivos y permite la incorporación de novedosas herramientas tecnológicas, sin traicionar su esencia filosófica.

Conclusiones

De la exposición anterior, se concluye que los más auténticos antepasados y embriones de los postulados de Koch están integrados por seis experimentaciones que se iniciaron en 1687 con el estudio de la etiología de la sarna del cuero cabelludo del hombre, seguido de la investigación sobre la muerte del azafrán en 1728, del carbón hediondo del trigo en 1807, de la “muscardina” o “mal segno” del gusano de seda en 1834-1836, para finalizar con las pruebas aportadas en la década de 1860 acerca de la naturaleza fungosa del tizón tardío de la papa y de la causa bacteriana del ántrax. A pesar de su historia secular, dicha ley ha superado la prueba del tiempo por su esencia filosófica y su estabilidad conceptual y, por otro lado, debido a su relativa independencia, ha permitido la incorporación de nuevos marcadores y protocolos experimentales propios de cada disciplina, sin renunciar a sus principios filosóficos.

Literatura citada

Allen, M.W. 1960. Nematicides: pp. 603-638. En: Horsfall, J. G. y Dimond, A.E. (eds). Plant pathology, an advanced treatise. Vol. 2. Academic Press, Nueva York.

Ángel, J.C., F. Ángel y J.I. Victoria. 2001. Diagnóstico molecular de razas de virus del síndrome de la hoja amarilla en caña de azúcar (ScYLv) en Colombia. Fitopatol. Colomb. 25, 19-22.

Baker, K.F. 1971. Fire blight of pome fruits: the genesis of the concept that bacteria can be pathogenic to plants. Hilgardia 40, 603-633.

Barnes, D.S. 2000. Historical perspectives on the etiology of tuberculosis. Microbes Infect. 2, 431-440.

Bos, L. 1981. Hundred years of Koch's postulates and the history of etiology in plant virus research. Neth. J. Plant Pathol. 87, 91-110.

Bos, L. 1976. Problems and prospects in plant virus identification. EPPO Bulletin 6, 63-90.

Carter, K. C. 1985. Koch's postulates in relation to the work of Jacob Henle and Edwin Klebs. Med. Hist. 29, 353-374.

Cohen, H. 1953. The evolution of the concept of disease. Proc. Royal. Soc. Med. 48, 155-160.

Coury, C. 1967. The basic principles of medicine in the primitive mind. Med. Hist. 11, 111-127.

DeLacy, M.E. y A.J. Cain. 1995. A Linnean thesis concerning *contagium vivum*: The “*Exanthemata viva*” of John Nyander and its place in contemporary thought. Med. Hist. 39, 159 - 185.

Delaporte, F. 1997. La novedad en patología. Historiay Sociedad 4, 69-85.

Doetsch, R. N. 1978. Benjamin Marten and his “new theory of consumptions”. Microbiol. Rev. 42, 521-528.

Doetsch, R. N. 1965. Daniel Drake's aetiological views. Med. Hist. 9, 365-373.

Doetsch, R. N. 1964. John Crawford and his contribution to the doctrine of *contagium vivum*. Bacteriol. Rev. 28, 87-96.

Dollet, M. 1984. Plant diseases caused by flagellate protozoa (*Phytomonas*). Annu. Rev. Phytopathol. 22, 115-132.

Drews, G. 2000. The roots of microbiology and the influence of Ferdinand Cohn on microbiology of the 19th century. FEMS Microbiol. Rev. 24, 225-249.

Duhamel du Monceau, H. L. 1728. Explication physique d'une maladie qui fait périr plusieurs plantes dans le gâtinais et particulièrement le safran. Mem. Acad. Sci. Math. Phy. 4, 100-12.

English, P.C. 1985. Diphtheria and theories of infectious disease: centennial appreciation of the critical role of diphtheria in the history of medicine. Pediatrics 76, 1-9.

Falcone, G. 1999. I postulate di Koch: passato e presente. GIMMOC 3, 177-184.

Falkow, S. 2004. Molecular Koch's postulates applied to bacterial pathogenicity - a personal recollection 15 years later. Nat. Rev. Microbiol. 2, 67-72.

Feezer, L.W. 1921. Theories concerning the causation of disease. Am. J. Public Health 11, 908-912.

Fouchier, R.A.M., T. Kuiken, M. Schutten, G. van Amerongen, G.J.J. van Doornum, B.G. van den Hoogen, M. Peiris, W. Lim, K. Stöhr y A.D.M.E. Osterhaus. 2003. Koch's postulates fulfilled for SARS virus. Nature 423, 240.

Fredricks, D. N. y D. A. Relman. 1996. Sequence-based identification of microbial pathogens: a reconsideration of Koch's postulates. Clin. Microbiol. Rev. 9, 18-33.

Gradmann, C. 2004. A harmony of illusions: clinical and experimental testing of Robert Koch's tuberculin 1890-1900-. Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci. 35, 465-481.

Grimes, D.J. 2006. Koch's postulates- then and now. Microbe 1, 223-228.

Gröschel, D.H.M. 1982. The etiology of tuberculosis: A tribute to Robert Koch on the occasion of the centenary of his discovery of the tubercle bacillus. ASM News 48, 248-250.

Hall, P.A. y N.R. Lemoine. 1991. Koch's postulated revisited. J. Pathol. 164, 283-284.

Halliday, S. 2002. Commentary: Dr John Sutherland, *Vibrio cholerae* and “predisposing causes”. Int. J. Epidemiol. 31, 912-914.

Harden, V.A. 1992. Koch's postulates and the etiology of AIDS: an historical perspective. Hist. Phil. Life Sci. 14, 249-269.

- Hawley, H.B. 2000. Anthrax: blains upon man. *Antimicrob. Infect. Dis. Newsl.* 18, 65-71.
- Hayward, A.C. 1974. Latent infections by bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 14, 87-99.
- Hopkins, D.L. 1977. Diseases caused by leafhopper-borne, rickettsia-like bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 17, 277-294.
- Horsfall, J.G. y A.E. Dimond. 1959. The diseased plant: pp. 1- 17. En: Horsfall, J.G. and Dimond, A.E. (eds). *Plant pathology, an advanced treatise*. Vol I. Academic Press, Nueva York.
- Howard-Jones, N. 1977. Fracastoro and Henle: a re-appraisal of their contribution to the concept of communicable diseases. *Med. Hist.* 21, 61-68.
- Inglis, T.J.J. 2007. Principia aetiologica: taking causality beyond Koch's postulates. *J. Med. Microbiol.* 56, 1419-1422.
- Jannier, M. 1994. Histoire du sarcopte de la gale. *Hist. Sci. Méd.* 28. En: <http://www.bium.univ-paris5.fr/sfhd/ecrits/sarcopte.htm>. 06; consulta: noviembre de 2005.
- Kaufmann, S.H.E. 2003. A short history of Robert Koch's fight against tuberculosis: those who do not remember the past are condemned to repeat it. *Tuberculosis* 83, 86-90.
- Keele, K.D. 1974. The Sydenham - Boyle theory of morbidic particles. *Med. Hist.* 18, 240-248.
- Keitt, G.W. 1959. History of plant pathology: pp. 61-97. En: Horsfall, J. G. y Dimond, A.E. (eds.). *Plant pathology, an advanced treatise*. Vol I. Academic Press, Nueva York.
- Kelman, A. y P.D. Peterson. 2002. Contributions of plant scientists to the development of the germ theory of disease. *Microbes Infection* 4, 257-260.
- Kennedy, B.W., K.D. Widin e I.F. Baker. 1979. Bacteria as the cause of disease in plants: a historical perspective. *ASM News* 45, 1-5.
- Koch, R. 1876. The etiology of anthrax, based on the life history of *Bacillus anthracis*. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 2(2), 277-310. En: <http://ce.ecn.purdue.edu/~piwc /w3-history/koch/koch-anthrax.html>; consulta: julio de 2003.
- Kübler, T. 2003. Philippe Ignace Semmelweis, la vérité prématurée. *La Recherche* 363, 44-47.
- Lakhani, S.R. 1993. Early clinical pathologists: Robert Koch (1843 - 1910). *J. Clin. Pathol.* 46, 596-598.
- Large, E.C. 1940. *The advance of the fungi*. Dover Publications, Nueva York.
- Lee, I.-M., A. Bertaccini, M. Vibio y D.E. Gundersen. 1995. Detection of multiple phytoplasmas in perennial fruit trees with decline symptoms in Italy. *Phytopathology* 85, 5728-735.
- Molgaard, C.A. y S.K. Brodine. 1992. Epidemiological concepts: pp. 95-105. En: Lederberg, J. (ed.). *Encyclopedia of microbiology*, Vol 2. Academic Press, California.
- Morales, F., I. Lozano, C. Muñoz, M. Castaño, J. Arroyave, F. Varón, B. Chávez y G. Castillo. 2001. Caracterización molecular de los virus que afectan al maracuyá (*Passiflora edulis* Sims) y otras pasifloras en Colombia. *Fitopatol. Colomb.* 25, 99-102.
- Mountain, W.B. 2002. Historical concepts of pathogenicity by soil nematodes. *Nematol. Newsl.* 48 (3), 1-5.
- Moura, R.M. 2002. Relembrando Anton de Bary e sua obra fitopatológica. *Fitopatol. Bras.* 27, 337-343.
- Münch, R. 2003. Robert Koch. *Microbes Infect.* 5, 69-74.
- Nutton, V. 1983. The seeds of diseases: an explanation of contagion and infection from the Greeks to the Renaissance. *Med. Hist.* 27, 1-39.
- O'Bannon, J.H. y A.L. Taylor. 1968. Migratory endoparasitic nematodes reared on carrot disc. *Phytopathology* 58, 385.
- Orlob, G.B. 1973. Ancient and medieval plant pathology. *Pflanzenschutz Nachrichten Bayer* 26, 65-294.
- Paulin, J.-P., M. Ridé y J.-P. Prunier. 2001. Découverte des bactéries phytopathogènes il y a cent ans: controverses et polémiques transatlantiques. *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie* 324, 905-914.
- Pirog, E. 2000. The Paracelsus story. *J. Rel. Psych. Res.* 23, 218-222.
- Porter, J. R. 1973. Agostino Bassi bicentennial (1773 - 1973). *Bacteriol. Rev.* 37, 284-288.
- Puttemans, A. 1940. Some data concerning the history of phytopathology in Brasil and the first notices of diseased plants in the country. *J. Agric. Univ. Puerto Rico* 24, 77-107.
- Quevedo, L. 2000. El tránsito desde la higiene hacia la salud pública en América latina: pp. 18-76. En: *Memorias del Curso Itinerante La salud Colectiva a las puertas del siglo XXI*. Universidad de Antioquia-Universidad Nacional de Colombia. Vol. 1. Medellín.
- Ramos-e-Silva, M. 1998. Giovan Cosimo Bonomo (1663-1696): Discoverer of the etiology of scabies. *Intl. J. Dermatol.* 37, 625-630.
- Rapilly, F. 2001. Champignons des plantes: les premiers agents pathogènes reconnus dans l'histoire des sciences. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie* 324, 893 - 898.
- Reynolds, E.S. 1918. Two tomato diseases. *Phytopathology* 8, 535-542.
- Rivers, T. M. 1937. Viruses and Koch postulates. *J. Bacteriol.* 33, 1 - 12.
- Scholthof, K-B. G. 2003. One foot in the furrow: linkages between agriculture, plant pathology, and public health. *Annu. Rev. Public Health* 24, 153-174.
- Smith, G.D. 2002. Commentary: Behind the Broad Street pump: aetiology, epidemiology and prevention of cholera in mid-19th century Britain. *Intl. J. Epidemiol.* 31, 920-932.
- Stropnik, Z.C. 2002. Plencic (1705 - 1786): might we call him a microbiologist? *FEMS Circular* 52, 7.
- Summers, W.C. 2000. History of microbiology. En: *Encyclopedia of microbiology*. Academic Press. En: <http://info.med.yale.edu/therarad/summers/histmicro.pdf>. 18 p; consulta: octubre de 2003.
- Théodoridès, J. 1966. Casimir Davaine (1812-1882): a precursor of Pasteur. *Med. Hist.* 10, 155-165.
- Verhoeff, K. 1974. Latent infections by fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 14, 99-110.
- Wainwright, M. 2001. Microbiology before Pasteur. *Microbiol. Today* 28, 19-21.
- Wainwright, M. 2003. An alternative view of the early history of microbiology. *Adv. Appl. Microbiol.* 52, 333-355.