

la célula son incoloros en estado fresco. Si después de desecarlas se humedecen de nuevo, se observa en el centro un núcleo rojizo. La formación de esporos es desconocida. Forman una capa mucilaginosa y sonrosada en las rodajas de patata, en la gelatina nutritiva, etc. En esta última sustancia se desarrolla en forma de una raya blanca con ligeras prolongaciones laterales. Este trazo se desvanece solamente en la superficie de la gelatina y sólo aquí se observa la formación del principio colorante. Los ácidos ni los álcalis no alteran a este último.

El *saccharomyces glutinis* (rosahefe) parece muy difundido en nuestras comarcas. Se presenta en casi todas las placas de gelatina que se han expuesto por algún tiempo al aire, en forma de una ó muchas colonias de color de rosa. Según Hansen, hay tres géneros diferentes de fermento-rosa: uno forma ascosporos; otro produce un micelio particular, cuando la nutrición es insuficiente.

En el aire y en el agua se encuentra también á veces un fermento negro, tirando á pardo. Todavía no se ha hecho su descripción detallada.

IV.—Los esquizomicetos.

Con el nombre de *esquizomicetos* (spaltpilze) ó de *bacterias* (bacterien) (1) se designa un gran grupo de organismos en extremo pequeños, monocelulares, globulosos ó filiformes y que se multiplican por división.

Como por lo general están desprovistos de clorofila, venen obligados á vivir cual parásitos ó saprofitos, como los hongos. La asimilación y la multiplicación de estos organismos se realizan con tal intensidad, que la consecuencia de su desarrollo es alterar por completo y destruir el substrato nutritivo. Con frecuencia hasta tienen el poder de aumentar esta descomposición, produciendo fermentaciones. En los casos en que viven como parásitos, producen enfermedad en sus huéspedes y hasta determinan su muerte.

(1) De Bary da la preferencia al nombre de *bacteria* porque algunos géneros tienen clorofila y, por consiguiente, no pertenecen á los hongos. Anteriormente se usaba la denominación de *bacterium* para designar un género de los esquizomicetos. Como éste no puede sostenerse como tal, nada se opone á que se adopte lo propuesto por De Bary. Para esta clase se emplean también otras denominaciones: *microbios*, *hongos*, *toruláceas*, *bacterias* (Pasteur); *microzimas* (Béchamp); *spaltheffe* (Nägeli); *microsporinas* y *monadinas* (Klebs); *coccobacteria*, con las subdivisiones en *micro*-, *meso*- y *megacoccus*; *micro*-, *meso*- y *megabacteria*, *glacoccus*, *petalococcus*, etc. (Billroth).

1.—CARACTERES MORFOLÓGICOS GENERALES

Los esquizomicetos presentan formas muy diferentes. Unos la tienen globulosa ú oval, y entonces se designan con el nombre de *micrococcus*; cuando estas células redondeadas forman cadenas ó rosarios se llaman *streptococcus* ó *torula*; por el contrario, si están reunidas en masas irregulares se denominan *staphylococcus* (*zoogloea*). Otros esqui-

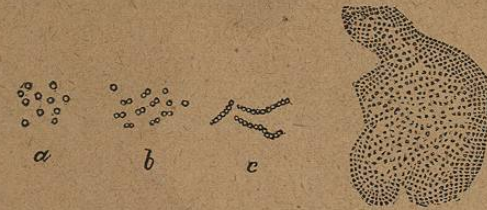


FIGURA 33.—Diferentes formas de crecimiento.

a. *Micrococcus* aislado.—b. *Diplococcus*.—c. *Streptococcus*.—d. *Zoogloea*.

zomicetos se alargan, como bastoncitos, de tal suerte que su dimensión en sentido longitudinal excede al diámetro trasversal; para esta forma se usa la designación de *bacillus*. (Antiguamente se distinguía también entre los bastoncillos cortos, *bacterium*, y los largos *bacillus*, en los cuales un diámetro es doble ó triple que el otro.) A los bacilos abultados en el centro (fusiformes) se les llama *clostridium*.



FIGURA 34.—Formas diversas de crecimiento (700/1).

a. b. Bacilos.—c. Clostridio.—d. Filamentos, pseudo-filamentos.—e. Falsa ramificación.—f. Vibrion.—g. Espirilo.—h. Esporos.

Por el alargamiento de los bacilos pueden producirse verdaderos filamentos; por la yuxtaposición de muchos bacilos en una dirección longitudinal se pueden ver los que se llaman falsos filamentos; este estado se designa con el nombre de *leptothrix*. Los filamentos verdaderos ó falsos nunca presentan verdaderas ramificaciones como el micelio de

los mohos; á lo más, se observan pseudo-ramificaciones por efecto de una especial union de varios filamentos.

En muchas especies los bacilos están regularmente ondulados ó arrollados en espiral, y es lo que se llama *spirillum* ó *spirochaetes*. Cuando las espirales no están pronunciadas parecen más largos estos espirilos, y entónces se denominan *vibriones*. Los filamentos arrollados cuyos extremos se enlazan como una masa de cabellos se designan con el nombre de *spirulina*. Por último, una forma bajo la cual se presentan con bastante frecuencia los esquizomicetos es la de *esporos*. Estos son células ovales ó esféricas que sirven únicamente para la reproducción y conservación de la especie y se desarrollan reproduciendo el organismo que les ha dado origen.

Formas de involucion. — Los esquizomicetos, además, en soluciones nutritivas agotadas y en diferentes condiciones adquieren formas extrañas que provienen de su involucion, de su amortiguamiento. Son abultamientos variados alternando con estrangulaciones; á veces hay hasta una disgregacion completa del organismo.

Es de notar que muchos esquizomicetos sólo presentan una forma de desarrollo, por ejemplo, la de *micrococcus*. Otros, por el contrario,

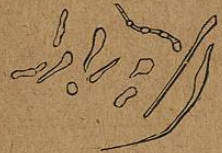


FIGURA 35.—Formas de involucion.

presentan diversas formas de crecimiento. En el curso de su desarrollo puede un mismo individuo pasar por diferentes estadios sucesivos; así muchos bacilos dan origen á filamentos en los cuales se producen esporos; fuera de éstos nacen de nuevo bacilos. Por tanto, las formas esporos, bacilos y filamentos pertenecen al ciclo de desarrollo de estos esquizomicetos.

Además de los signos distintivos generales de la forma de crecimiento, se pueden distinguir también en los esquizomicetos, á pesar de sus restringidas dimensiones, diferencias morfológicas de poca importancia, es cierto, pero que sin embargo son características de una ú otra especie.

Sobre este particular hay que tener en cuenta la dimension de los individuos aislados. Por ejemplo, una especie puede crecer con la forma de grandísimos cocos (*megacoccus*), los cuales tienen á lo menos $1\frac{1}{2}$ - 2 μ de diámetro; mientras que otras están constituidas por *micrococcus* que sólo tienen 0,1 - 0,2 μ de diámetro. Los bacilos presentan diferencias típicas más marcadas; los de una especie pueden ser tenues y largos, los de otra gruesos y cortos. Los unos son muy grandes, los otros en extremo finos y delicados. Sus extremidades pueden ser, ya redondas, ya agudas, ora cortadas claramente ó hasta algo cóncavas.

Diferencias individuales en una misma especie. — En una sola y misma especie, caracterizada por una particular forma de crecimiento, se pueden observar, sin embargo, diferencias individuales de configuración. En este sentido tiene ante todo una gran influencia la edad del individuo. Los bacilos jóvenes son más cortos que los viejos; los cocos que acaban de formarse por escision son con frecuencia más pequeños que los que les han dado origen. También representa cierto papel la nutrición; según el medio nutritivo en el cual ha crecido el esquizomi-



FIGURA 36.—Diferentes formas de micrococcos (700/1). FIGURA 37.—Formas variadas de bacilos (700/1).

ceto, según el estado más ó menos favorable de las condiciones para el desarrollo, se ven surgir diferencias, á la verdad poco importantes, en el tamaño y grueso de los elementos, que muchas veces tienen una forma viciosa ó miserable. Pero todas estas influencias casi nunca borran, sin embargo, los caracteres morfológicos particulares de la especie. A pesar de las modificaciones resultantes de la edad y de la nutrición, permanecen perfectamente puros en el mayor número de individuos los caracteres particulares; por ejemplo, la relación entre el diámetro longitudinal y el trasversal, la forma de las extremidades.

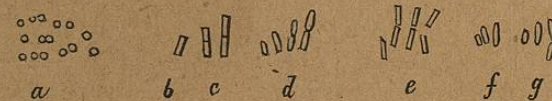


FIGURA 38.—Diferencias morfológicas individuales, debidas, ya á la edad, ya á la nutrición (700/1).

a. *Coccus*: diferencias por estos dos factores, en una misma especie. — b. c. *Bacillus*: diferencias por la edad, en dos especies diferentes. — d. e. f. g. *Bacillus*: diferencias por la nutrición en cuatro especies diferentes.

Todas las células de los esquizomicetos consisten en una membrana celular y en un contenido análogo al protoplasma ordinario, que por lo comun es incoloro, salvo en ciertas especies recién descritas por Van Tieghem. Entre estas especies algunas contienen *clorofila*; otras, que constituyen agentes de la putrefacción, encierran *bacterio-purpurina*. Con frecuencia se observan en las células pequeñas granulaciones gra-

sientas ó corpúsculos muy refringentes constituidos por *azufre* (*beggiatoa* y organismos rojos de la putrefaccion). Algunas bacterias, tratadas por el iodo, manifiestan un color azul que indica la presencia de *granulosa*; esta reaccion se produce sobre todo claramente en el período precursor de la formacion de los esporos. No se encuentra núcleo. Cuando las células mueren ó degeneran vese aparecer una alteracion más marcada: la degeneracion granulosa del protoplasma. La membrana celular, que en las especies móviles debe ser extensible, está en algunas otras impregnada de sustancias colorantes. Muchas veces se ve fuera de la membrana celular una cubierta gelatinosa más gruesa, que está desigualmente desarrollada en las diversas especies de esquizomicetos. Con frecuencia es en extremo perceptible, sobre todo desde el empleo de los métodos colorantes; rodea á la célula con una ancha zona, cuyo contorno exterior corresponde á la forma de la célula. Algunas veces puede estar limitada la existencia de la cápsula á los espacios intermedios que las células dejan entre sí. Algunas formas de esquizomicetos están constantemente en reposo; las células globulosas, los micrococos, no tienen más que un movimiento oscilatorio y una locomocion tan limitada que puede con frecuencia atribuirse á sacudidas inevitables ó á corrientes. Nunca se les ve recorrer grandes distancias. Otras formas, las bacterias, los bacilos, los espiroquetos, están, ora en reposo,



FIGURA 39.—Bacilos y espirilos provistos de filamentos vibrátiles.

ora en movimiento. Este último consiste, parte en una rotacion alrededor del eje longitudinal, parte en un movimiento de flexion y de extension. Como causa del movimiento, parece que en muchos casos es preciso referirlo á las oscilaciones de filamentos vibrátiles. Se ha podido demostrar la existencia de éstos en muchos espirilos y en bacilos; pero hasta en tales casos sólo es posible esto con los mayores aumentos y eventualmente con una disposicion especial de las preparaciones.

(Deseccacion y coloracion por medio del violeta de genciana, ó mejor con una solución acuosa concentrada de extracto de campeche.) A veces no se revela su presencia más que por un movimiento particular (torbellino) del líquido junto á los extremos de la célula. El movimiento de las bacterias se verifica en la direccion del eje mayor, hácia adelante ó hácia atrás. Ora es lento, vacilante, y consiste en una especie de rodadura; ora es vivo y precipitado, de suerte que atraviesan con rapidez el campo visual del microscopio. Las condiciones exteriores más variadas tienen gran influencia sobre ellos; así, las variaciones de temperatura y la falta de oxígeno retardan ó suprimen los movimientos.

Formas de reposo.—En estado de reposo, los esquizomicetos per-

manecen aislados ó se reúnen en colonias ó filamentos más ó menos extensos. En los últimos casos las células producidas por division no se separan, sino que permanecen unidas por medio de su cubierta gelatinosa. Finalmente, de aquí resultan grandes aglomeraciones de células reunidas entre sí por una sustancia intercelular gelatinosa. Designase esta forma con el nombre de *zoogloea*. Donde más se observa es en los micrococos y las bacterias, y también en los bacilos cortos y los espiroquetos. La forma exterior de las zoogleas es muy variada, ora esférica, ora globulosa, lobular. A veces hay una ramificacion arborescente particular y, en casos aislados, se desarrollan gruesas cápsulas de aspecto cartilaginoso. En general, la formacion de las zoogleas es absolutamente igual á la formacion de las cápsulas de gelatina en algunas familias de algas (particularmente en las *phycochromaceas*). En la multiplicacion de los esquizomicetos por division, ésta se verifica las más de las veces en una sola y misma direccion, de suerte que en los casos en que las células de nueva formacion continúan unas junto á otras, se forma una cadena (*streptococcus*). Sólo en algunos micrococos (*micrococcus tetragenus*, *sarcina*) se observa simultánea ó sucesivamente una escision en dos ó tres direcciones diferentes. Se forman entónces como tabletas de cuatro y paquetes de ocho células; Zopf ha designado á las primeras con el nombre especial de *merismopedia*; á los últimos se les ha reservado el de *sarcina*. En las bacterias globulosas la division se verifica en un diámetro cualquiera, pero los bacilos sólo se dividen en sentido trasversal. Antes de realizarse la division, las células se alargan, luego se ve aparecer un estrangulamiento perceptible en medio de la pared longitudinal, y, finalmente, la division se produce al nivel del estrangulamiento. Los dos individuos así formados pueden separarse entónces y experimentar á su vez la misma division, ó pueden permanecer unidos por medio de cubiertas gelatinosas y formar así cadenas, pseudo-filamentos, como consecuencia del hecho de que la division trasversal se verifica siempre en la misma direccion. Por último, contribuyen también, cuando se produce en abundancia materia gelatinosa, á formar masas de zooglea, dentro de las cuales puede continuar aún la division de las células aisladas, lo que determina una aglomeracion más compacta en la zooglea. Casi siempre termina con rapidez la division trasversal; á 35° puede observarse ya la division completa del bacilo al cabo de veinte minutos. Influencias exteriores é individuales pueden hacer variar la duracion de la division. Es evidente siempre que la multiplicacion de los esquizomicetos debe hacer enormes progresos en el espacio de uno ó varios días.

Si se parte de un solo esquizomiceto y se admite que cada individuo emplea una hora para desarrollarse y dividirse, al cabo de un

día habrán salido de este sólo individuo unos 16 millones; al día siguiente su número se contará por billones.

2. — REPRODUCCION POR ESPOROS

Además de la multiplicación por división, se produce con frecuencia en muchos esquizomicetos y en circunstancias especiales una verdadera fructificación, una formación de esporos. Esto se verifica especial pero no exclusivamente cuando las materias nutritivas impidan se produzca el agotamiento. Distingúese una formación de *endosporos* y una formación de *artrosporos*. La primera constituye la especie más esencial y frecuente de los modos de producirse los esporos. Se presenta en diferentes bacilos y quizá en algunos espirilos, pero varía en las diferentes especies.

En muchos casos, antes de formar esporos, crecen los bacilos hasta constituir largos filamentos. Cuando las circunstancias son favorables alcanzan en tres ó cuatro horas una longitud veinte veces mayor que los bacilos ordinarios. Los filamentos están ondulados, retorcidos, reunidos en haces ó entrelazados en madeja. En este momento contie-



FIGURA 40.—Formación de esporos en diferentes bacilos (700/1).

nen una sustancia homogénea, pálida. Algunas horas después se ve muy clara la segmentación de estos pseudo-filamentos. Al mismo tiempo se nota que el contenido se enturbia, y que á distancias regulares se presentan pequeñas granulaciones mucho más refringentes. Al cabo de unas veinte horas están formados los esporos, la mayoría de los cuales son ovoideos, de contornos oscuros y muy refringentes. En el interior de los filamentos están, por lo común, dispuestos á manera de rosario. Los filamentos se disgregan poco á poco, los esporos quedan libres y caen al fondo del líquido que los contiene.

Otro modo de formarse los esporos es el siguiente: los bacilos no se desarrollan en pseudo-filamentos, sino que al principio se engruesan, adquieren un aspecto fusiforme, elipsoidal, ó una forma de renacuajo. Al mismo tiempo todo el protoplasma se condensa, y la membrana se engruesa. Entonces se enturbia el contenido, y se separa una gotita más grande muy refringente, que se transforma en espora. (For-

mación de esporos en el *clostridium butyricum*, según Prasmowsky.) En otros casos se forman en el bacilo, sin que por lo demás se muestre alterado, dos, tres ó varios puntos globulosos brillantes. Estos puntos representan los esporos. En fin, en uno de los polos del bacilo puede formarse un espora globuloso, oval, cuyo diámetro excede considerablemente al del bacilo que lo contiene (*köpfchensporen*). Si esta formación se verifica en ambas extremidades del bacilo, resultan formaciones semejantes á pesas de gimnasia. Algunas veces estos esporos sobresalen del contorno del bacilo de un modo tan aparente, que diríase que éste lleva pequeñas hernias en su pared.

Naturaleza de los esporos.— Los esporos formados de esta manera en el interior de las células aparecen cuando están aislados como células esféricas, la mayor parte algo alargadas, ovoideas. Tienen 1 á $2\frac{1}{2}$ μ de diámetro longitudinal, y $\frac{1}{2}$ á 1 μ de diámetro trasversal. Lo que es sobre todo característico es su refringencia. Su contenido parece aceite. Sin embargo, su brillo luminoso no se altera por ebullición en el éter; de suerte que el contenido no debe ser grasa, sino más bien protoplasma condensado. Tienen una membrana espesa, muy perceptible. Algunas veces pueden distinguirse en ésta dos capas: el *exosporium* y el *endosporium*. Fuera de éste aparece también algunas veces un área luminosa particular, que ya se considera como una masa globulosa, hialina, trasparente, en la cual está encerrada la célula; ya, por el contrario, como un fenómeno puramente óptico, que depende del intenso brillo luminoso del espora. Los esporos pueden germinar en una solución nutritiva y dar nuevos bacilos, á una temperatura conveniente. Sin embargo, esto no sucede sino después de un largo estadio de reposo, y rara vez en la misma solución nutritiva donde se han desarrollado los esporos. Koch ha observado durante la germinación lo que sigue: la masa globulosa hialina que rodea al espora se vuelve ovoidea y se alarga, formando una especie de filamento; durante este tiempo el espora mismo se pone pálido, y desaparece luego. Según Prasmowsky y Brefeld, los esporos se hinchan primero, se decoloran y, por último, pierden sus contornos y su aureola clara. Entonces se ven aparecer sombras semilunares oscuras en ambos polos del espora, por efecto de un movimiento de temblor, se abomba y forma en una de las extremidades de su eje mayor una papila, que se desarrolla después en un bastoncillo. En otros casos, el micelio perfora al espora después que la membrana se ha engruesado con bastante regularidad en toda su extensión.

El endospora se transforma por lo común en membrana del germen, mientras que el exospora alterado permanece con frecuencia caído junto al bastoncillo de nueva formación.

Artrospóreas.— En las bacterias artrospóreas la fructificación se efectúa

túa por el hecho de la mayor vitalidad de ciertos elementos de una cadena ó de un foco de bacterias. Estos elementos muchas veces no presentan diferencia morfológica alguna que permita distinguirlos de las demas bacterias de la misma colonia.

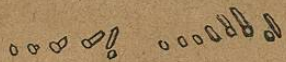


FIGURA 41. — Germinación de los esporos (800/1).

En ocasiones, las células un poco más voluminosas destinadas á la conservación de la especie parecen llenas de un protoplasma más compacto y más refringente. Miétras mueren las restantes células del foco, estos elementos dan origen á nuevos gérmenes (De Bary).

Resistencia de los esporos verdaderos.—La mayoría de los esporos, en particular los producidos por formación endógena, presentan el carácter de *células vivaces* más resistentes que las células vegetales de la misma especie. Algunos, hasta son tenaces en extremo; pueden soportar algunos minutos la temperatura de la ebullición, y aún los agentes químicos más diversos no los destruyen sino con lentitud ó de un modo incompleto.

Claro es que esta propiedad de los esporos les da un interés particularísimo desde el punto de vista de la Higiene.

Así, la posibilidad de destruir por medio de ciertos desinfectantes un germen patógeno cualquiera, dependerá esencialmente de que el germen de esa enfermedad produzca ó no esporos resistentes. No todos los esporos vivaces presentan el mismo grado de resistencia; por el contrario, se observan los grados más diversos. Para reconocer una célula como espora es preciso que tenga cierto grado de resistencia, y, sobre todo, una disposición natural para conservar su vitalidad en el aire seco. Hay que esperar aún la determinación más exacta de las llamadas *artrospóreas*. Los micrococos y la mayoría de los espirilos están caracterizados probablemente por una total carencia de esporos. Si se examinan mezclas de bacterias muy calentadas, las especies que permanecen viables á despecho de una temperatura de 80 á 100° están formadas casi exclusivamente de esporos vivaces. No se encuentra ninguna de las especies que presentan otra forma de crecimiento.

3. — CARACTERES DE LOS CULTIVOS DE ESQUIZOMICETOS

Los esquizomicetos se dejan distinguir á simple vista cuando están muy aglomerados, ya por simple yuxtaposición de los gérmenes, ya

por formarse zoogreas, etc. En los líquidos, por ejemplo, producen un enturbiamiento difuso, ó nubes que nadan en la masa, ó hasta membranas más ó ménos gruesas que recubren la superficie. Algunas veces las masas de zoogreas constituyen grumos que nadan en el líquido nutritivo, ó, en fin, los esquizomicetos se depositan en el fondo de este último en forma de un precipitado pulverulento: esto sucede cuando se agotan las materias nutritivas y no se verifica ya la multiplicación de los gérmenes. Pero ciertas especies de bacterias pueden desarrollarse sin que podamos comprobar macroscópicamente una modificación del líquido que las nutre.

Lo particularmente característico es el aspecto de las colonias bacterianas en los medios nutritivos sólidos. Estos medios nutritivos, que encierran sin embargo mucha agua, empleáanse hace poco. Gracias á ellos crecen aisladas las colonias diferentes; en los líquidos, por el contrario, una especie particular no se desarrolla de una manera fija en un sitio determinado, sino que lo hace mezclada con las demas especies presentes. Por consiguiente, sólo en un terreno nutritivo sólido es donde pueden observarse los signos característicos, los atributos particulares de una colonia formada por un germen determinado.

Los signos distintivos exteriores de las colonias puras tienen una gran importancia. En efecto, son casi diferentes para cada especie bacteriana; de tal suerte, que proporcionan caracteres más esenciales y mejores signos distintivos que los obtenidos con el microscopio. De aquí resulta que el aspecto de las colonias aisladas puede utilizarse muy bien para un diagnóstico que por lo comun presenta dificultades tan grandes.

Como medios nutritivos sólidos se emplean: las patatas, el pan, etcétera. Entónces las colonias de bacterias constituyen, ora gotitas mucosas blancas, amarillas ó rojizas; ora membranas blancas más secas; ora, en fin, capas viscosas de diferentes colores ó hasta tenues membranas apenas perceptibles. También se emplea lo que se llama la *gelatina nutritiva* (véase más adelante, métodos de cultivo). Esta última se prepara añadiendo á una solución nutritiva conveniente bastante gelatina para que la masa continúe sólida hasta unos 25°. Esta mezcla constituye una masa firme y trasparente. Se usa para preparar las *placas*, es decir, se mezcla con una pequeña cantidad de gelatina nutritiva liquidada á 30° una huella de la sustancia que contiene una mezcla de bacterias. Se echa entónces la gelatina en una placa de vidrio bien horizontal, de suerte que recubra á esta última con una capa de algunos milímetros de espesor. La gelatina se coagula al instante; cada bacteria aislada queda fija en un sitio determinado, donde puede desarrollarse. Cuando no hay excesivas bacterias en la mezcla no se tocan en la placa; cada germen puede dar entónces una colonia que presenta