

signos característicos de un modo tan preciso que, al cabo de algunos ensayos, se puede diagnosticar con facilidad la especie de que se trata. Todos estos focos tienen algo particular que permite reconocerlos, ya formen pequeñas gotitas mucosas blancas, amarillas, rojas, rosadas ó violeta (fig. 42, *a*); ora no haya más que pequeños focos puntiformes blancos ó amarillos; ó bien capas deprimidas, mucosas, de borde sinuoso (fig. 42, *b* y *e*); ó, por último, filamentos de maravillosa tenuidad, que forman haces radiados (fig. 42, *f*, *h*). O los hongos de la colonia tienen el poder de liquidar gradualmente la gelatina; entónces se nota alrededor de la colonia una depresión circular (fig. 42, *d*); ó

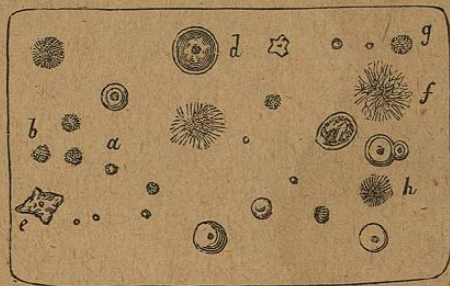


FIGURA 42. — Colonias de diferente naturaleza, en una placa de gelatina.

también se forma con rapidez un embudo lleno de líquido, en cuyo fondo se encuentra el foco de gérmenes. Con frecuencia, cuando hay liquefacción, se extiende la colonia primitiva por una gran parte de la placa.

Así, contornos, tamaño, color, naturaleza de la liquefacción, son otros tantos signos particulares importantes. Pero estos últimos aumentan todavía de una manera notable cuando se examina la colonia con un débil aumento (80/1). Entónces se ve que una colonia presenta un



FIGURA 43. — Colonias jóvenes de esquizomicetos en la gelatina.

borde limpio, cortado; al paso que otra ofrece contornos irregulares, sinuosos, presentando prolongaciones cortas ó hasta verdaderos filamentos que salen de un punto de la colonia y vuelven á entrar en ella por otro. La superficie, ora es lisa, ora granulada. Una es muy oscura, casi negra; otra es morena; otra tercera es amarilla clara; algunas no se distinguen casi por su tinte del medio en que se encuentran.

Dr. A. Carrillo.

Calle del Roble 49.

MONTERREY, N. L. MEX.

Si á pesar de todos estos medios se presentan, sin embargo, casos en que varias especies tienen los mismos caracteres en los cultivos en placas, entónces sucede algunas veces que son característicos el cultivo por picadura ó el cultivo en surco. (Véase más adelante.)

Para probar si estamos en ese caso, se procede del siguiente modo: se echa un poco de gelatina nutritiva en tubos de ensayo, se la deja coagular manteniendo los unos verticales, los otros casi horizontalmente. Se toma entónces, por medio de un hilo de platino, una huella de la colonia desarrollada en la placa; se traza un surco en la gelatina solidificada oblicuamente (*strichcultur*), ó se introduce hasta una profundidad de 4 centímetros en el tubo que se ha mantenido verticalmente (*stichcultur*). En el punto de inoculación se forman entónces, ya pequeñas colonias puntiformes aisladas (lo cual sucede cuando es mínima la cantidad inoculada), ya un depósito tenue confluyente en el



FIGURA 44. — Cultivos por picadura (gelatina).

conducto de la picadura (*stichcanal*), de tal suerte que ésta parece un filamento. En la parte superior del conducto se ve una capa delgada que se extiende hácia la periferia (fig. 45, *b*), ó se eleva una masa espesa, opaca, que llena por completo la abertura y forma un relieve muy prominente sobre su nivel (figs. 44, *a*, y 45, *a*). Por último, la gelatina puede liquidarse, ya con lentitud, á partir de la parte superior, y entónces la liquefacción queda circunscrita á los alrededores del punto en que se inoculó; ya con rapidez, y en este caso ocupa desde el principio toda la superficie (fig. 45, *c*). Otras veces, en fin, se ve desarrollarse, á partir del conducto de la picadura (el cual queda invisible),

una modificación en la gelatina, consistente, ora en una especie de nube de humo, ora en una disposición radiada, ora en un enrejado de filamentos (fig. 44, *b*, *c*).

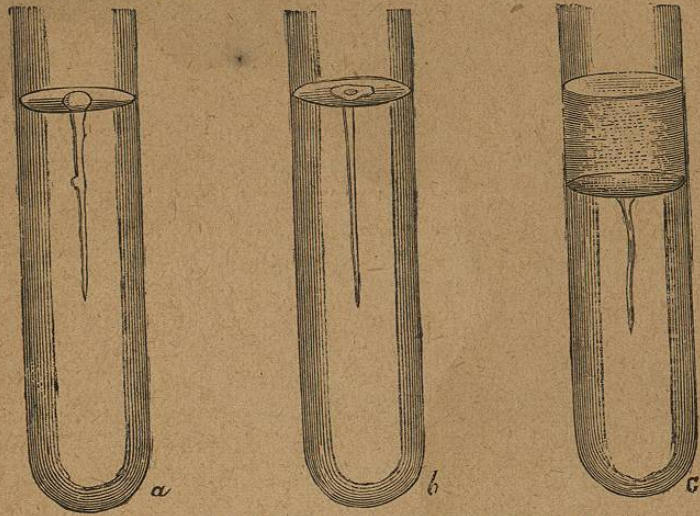


FIGURA 45. — Cultivos por picadura (gelatina).

En los cultivos en surco (fig. 46) se nota sobre todo muy bien si se forman gotitas separadas, si son vítreas y transparentes, ó blancas y

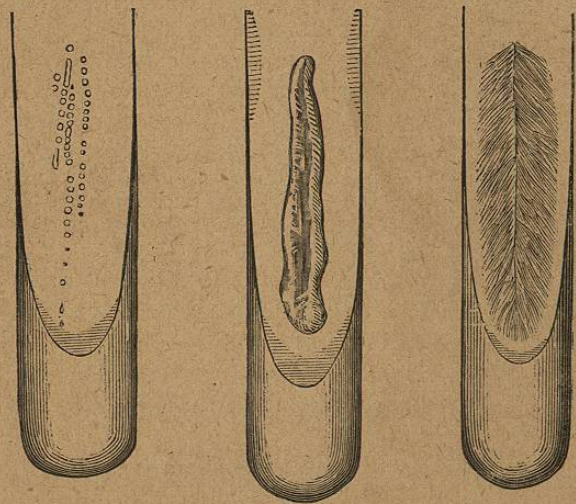


FIGURA 46. — Cultivos en surco (gelatina).

opacas; además, si queda limitado el crecimiento á la raya de inoculación, ó se produce un desarrollo más ó menos rápido hácia la perife-

ria; si el borde de la superficie de crecimiento es regular, rectilíneo ó irregular, escotado, dentellado.

Para ciertos hongos que liquidan enérgicamente la gelatina, empléase algunas veces con ventaja una mezcla de solución nutritiva de agar-agar (1), que permanece sólida aún á la temperatura de 37°. Sin embargo, el crecimiento en este medio nutritivo no presenta en general diferencias tan características como en la gelatina.

Algunas bacterias sólo se desarrollan bien en el suero sanguíneo coagulado y á la temperatura del cuerpo. Por lo general dan aquí colonias muy perceptibles. En fin, algunas no se desarrollan hasta constituir colonias características, sino al resguardo del oxígeno. Por consiguiente, no se pueden cultivar sino observando ciertas reglas que se expondrán después con detalles.

4. — DISTINCIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LOS ESQUIZOMICETOS

Presenta grandes dificultades la *clasificación sistemática* de las bacterias, especialmente á causa de sus exiguas dimensiones, que hacen que aún con ayuda de los medios ópticos más perfeccionados sólo distingamos su forma, al paso que su estructura y sus modos de fructificar no tienen nada de particular. Como sabemos, este último carácter es el que sirve de principio para la clasificación de las plantas y de los hongos más elevados.

Sin embargo, en presencia de las numerosas cantidades de bacterias que conocemos, y cuyo número aumenta diariamente, se deja sentir la necesidad de una clasificación. Ésta nos permitirá abarcar con una ojeada de conjunto las especies conocidas; nos permitirá también fijar la identidad de una especie observada con las anteriormente conocidas; en fin, las nuevas especies podrán ordenarse en este sistema.

La necesidad de una clasificación y de una clave que pueda servir para el diagnóstico de las bacterias es tal, que, aún en el caso en que no puede establecerse un sistema fundado en principios científicos, debemos contentarnos con una clasificación sistemática cualquiera.

Lo mismo que al principio se utilizaban para una clasificación botánica cualesquiera signos exteriores que pudiesen servir de medio diagnóstico, lo mismo debemos utilizar con igual fin, en el estado actual de nuestro conocimiento acerca de las bacterias, cualesquiera propiedades de estas últimas.

Así es que podemos recurrir á sus propiedades biológicas y morfo-

(1) El agar-agar es una especie de alga que proviene de Java. Encierra notable proporción de *gelosa*.

lógicas, á su forma exterior, á su modo de crecer en los substratos nutritivos y á su manera de conducirse en presencia del oxígeno. También tiene importancia su manera de conducirse con las materias colorantes; pero todas estas propiedades deben dar diferencias constantes y características de las diversas especies aisladas y permitir una fácil distinción entre ellas. Esperamos que por los perfeccionamientos de nuestros medios ópticos y por el estudio de los modos de fructificar las bacterias adquiriremos poco á poco bases sobre las cuales podamos fundar un sistema duradero. Actualmente debemos penetrarnos de la idea de que nuestros ensayos tienen un carácter provisional; pero renunciar á ellos sería poco práctico y dificultaría por largo tiempo los progresos de la Bacteriología.

Signos morfológicos de los cuatro grupos principales. — En el estado actual de nuestros conocimientos utilizamos para clasificar las bacterias, lo mismo sus propiedades morfológicas que las biológicas. En primer lugar, cuatro grandes divisiones se fundan en el hecho de observarse en un gran número de bacterias una sola forma de crecimiento, ó un ciclo determinado y circunscrito de formas de desarrollo.

A la primera division pertenecen todas las bacterias que sólo se presentan en forma de *micrococcus*.

En la segunda comprendemos los *bacillus*, que se presentan en forma de bastoncillos, de filamentos ó aun de esporos.

La tercera está constituida por los *spirillus*, que tienen la forma de espiras ó fragmentos de espira.

La cuarta lo está por las bacterias, en cuyo ciclo de desarrollo se encuentran las formas de crecimiento más *varias*.

Lo que sigue servirá para caracterizar estas cuatro divisiones.

PRIMERA DIVISION. — MICROCOCCUS

Caractéres morfológicos de los micrococos. — Células esféricas ú ovoides, que se multiplican por division y dan siempre de este modo nuevas células globulosas. Carecen siempre de movimiento espontáneo (los micrococos tienen un movimiento de oscilacion, segun hemos dicho más atrás); pueden cambiar de sitio por efecto de corrientes que existen en los líquidos, pero estos cambios de lugar se distinguen fácilmente de los verdaderos movimientos espontáneos.

Ademas, en los micrococos no se observa ninguna formacion endógena de esporos, ni de los que se llaman artrosporos, que se distinguen algunas veces por su tamaño y su brillo de las otras células. En algunos micrococos las células no son exactamente isodiamétricas; por el contrario, uno de los diámetros excede al otro en una cantidad sufi-

ciente para constituir un ovoide. Ademas, con frecuencia no es muy perceptible la forma esférica, porque habiendo comenzado la division y siendo aún incompleto el estrangulamiento, ambas células están todavía adheridas.

La célula en vías de division aparece entónces con una forma alargada, que presenta una estrangulacion más ó ménos profunda, es decir, que parece un bastoncillo corto. Se diferencian de los verdaderos bacilos, comparándolos con los individuos próximos no empezados á dividirse ó con aquellos por completo divididos.

Después que se ha realizado la division, los micrococos quedan separados ó unidos; en este último caso constituyen los estafilococos, los estreptococos, las merismopedias, las sarcinas y las zoogreas mencionadas más arriba. Si la sustancia intercelular de las zoogreas es muy dura, de tal modo que se formen masas cartilaginosas encajadas unas en otras, entónces se designa este modo de asociacion con el nombre de *ascococcus*; si las masas gelatinosas se disuelven en el interior, formando una tenue capa exterior vesiculosa llena de líquido, entónces se les reserva el nombre de *clathrocystes*.

SEGUNDA DIVISION. — BACILLUS

Caractéres morfológicos de los bacilos. — Son bastoncillos cuyo diámetro longitudinal excede al trasversal en el doble, triple ó más aún. Los esquizomicetos que corresponden á este grupo recorren casi siempre un ciclo de formas de crecimiento, de suerte que no presentan exclusivamente la forma bacilar. Muchos pueden consistir en filamentos, en cuyo interior se forman esporos, al paso que otros forman únicamente filamentos. En fin, ciertos bacilos, por efecto de cambios de la célula, descritos más arriba, forman esporos, ya en su centro, ya en sus extremidades, ya hasta en muchos puntos á la vez. La mayoría también presentan diversas formas de involucion. Podemos, pues, encontrar estas bacterias con diversos aspectos, pero lo característico para todas las células globulosas ú ovoideas que pertenecen al grupo de los bacilos es que provienen de bacilos y que, cuando se desarrollan, reproducen esta forma, ya directa, ya indirectamente.

Los bacilos se observan en estado de reposo, y entónces constituyen filamentos, grupos, zoogreas; ó son inmóviles. De vez en cuando pueden confundirse los bacilos y los micrococos; por ejemplo, cuando los bacilos están colocados verticalmente y sólo se ve su proyeccion trasversal. Pero entónces basta cambiar el punto del microscopio y comparar con los elementos próximos, para poder pronunciarse con certeza. A veces puede haber duda respecto á si se trata de un diplococo ó de

un bacilo. Sin embargo, pueden distinguirse uno de otro por la forma aguda de la estrechez que resulta de la division de un coco y por la forma redondeada de los elementos aislados. Sin embargo, tambien aqui puede compararse con los elementos próximos y observar de un modo continuo el desarrollo ulterior de los elementos aislados.

Merced á la débil diferencia de los diámetros, pueden tomarse por micrococos, á primera vista, bacilos jóvenes que acaban de formarse por division ó por germinacion de un espora.

Se advertirá fácilmente la diferencia observando el desarrollo y gracias al hecho de existir por lo comun al mismo tiempo formas de desarrollo más completas. Tambien podrian confundirse, en estado de esporos, con los micrococos; pero los primeros tienen un brillo más vivo, una refringencia más considerable; tienen una afinidad mucho mayor por los colores de anilina; en fin, la marcha ulterior del desarrollo permite reconocerlos.

TERCERA DIVISION. — SPIRILLUS

El tipo está representado por un filamento retorcido en espiral, que produce por multiplicacion elementos análogos. La mayoría del tiempo estos espirilos son movibles; con frecuencia están reunidos en enjambres. Todavía hay pocos datos positivos sobre la existencia eventual de un ciclo de desarrollo. Parecen tener una tendencia particular á producir formas de involucion. En algunos espirilos se ve palpablemente que la espira está constituida por un conjunto de bastoncillos encorvados; en ciertas circunstancias constituyen estos últimos la predominante forma de crecimiento, al paso que en otras se observa una sucesion continua de estos bastoncillos y la formacion de filamentos espirales. Es muy difícil establecer una diferencia clara entre estos elementos que constituyen los espirilos y los verdaderos bacilos ligeramente curvos que se observan muchas veces en las preparaciones microscópicas. Probablemente acabará por ser imposible esta distincion, porque, ensanchándose el círculo de nuestros conocimientos, encontraremos todas las formas de transicion entre estas dos especies, y entonces el género espirilo dejará de constituir una division independiente. Miétras tanto, y desde el punto de vista práctico, es útil reunir en el género *spirillus* todos los bacilos curvos que se desarrollan en un filamento espiral.

CUARTA DIVISION. — ESQUIZOMICETOS CON FORMAS VARIABLES DE CRECIMIENTO

Ninguno de los géneros antes descritos puede colocarse entre los ficomicetos observados por Zopf: *cladotrix*, *beggiatoa* y *crenotrix*. Según este autor, estos hongos presentan en el curso de su desarrollo un gran número de formas variadas. Así, un mismo individuo puede presentarse en forma de micrococo, de bacilo ó de espirilo. Es posible que más tarde se encuentren bacterias que posean tambien un número considerable de formas de crecimiento. Las diversas especies que provisionalmente se pueden colocar aquí (en tanto que tienen interés higiénico) serán bastante fáciles de reconocer, merced á la tendencia que tienen de dar gran número de formas de crecimiento, gracias tambien á una serie de signos característicos que aprenderemos á conocer más adelante.

«Necesidad de una designacion y de una interpretacion exacta de la forma observada.— La forma de un esquizomiceto no da con evidencia desde el principio nociones sobre la especie á que pertenece, sino que en algunos casos se presta á varias interpretaciones. Por ejemplo, si se observa una célula globulosa, ésta puede ser un micrococo, un espora, un producto de involucion. Podrá decirse que se trata de un micrococo cuando se haya comprobado que proviene por division de una célula tambien globulosa y que se halla en estado de reproducir un mismo elemento, cuando existen circunstancias favorables para la division. Por el contrario, si la célula esférica no proviene de una division, sino de la esporulacion de un esquizomiceto, si no se multiplica directamente por division sino sólo despues de germinar como célula madre, entonces debe designarse con el nombre de espora. Finalmente, si la forma globulosa de la célula resulta de la degeneracion de una célula formada de otra manera, si este resto globuloso ya no está en estado de reproducirse de cualquier modo, se trata de un producto de involucion que no merece el nombre de micrococo.

»Para citar otro ejemplo, si se observa un filamento en espiral ú ondulado, debemos preguntarnos si proviene de un elemento análogo y si es capaz de reproducir uno por division. Sólo cuando se prueba esto, hay derecho á decir que lo que tenemos á la vista pertenece á los grupos de los espirilos ó de los *spirochaetes*. En el caso contrario, es posible que se trate de un filamento accidentalmente encorvado, ó de una forma de involucion que ha nacido en circunstancias especiales. Importa mucho fijarse en la significacion y en la *manera de designar* estas diversas formas de crecimiento, porque sin esto se producen con facilidad errores y confusiones.»

Las diferencias ulteriores, en las cuatro divisiones principales, no pueden fundarse exclusivamente en caracteres morfológicos. Las di-

versas especies de micrococos no manifiestan, ni aún con un fuerte aumento, sino diferencias apenas sensibles. El agrupamiento de los cocos en cadenas, en zooglea, ofrece tantos matices, tantas formas de transición, que no se le puede utilizar como modo definitivo para diferenciarlos. Por el contrario, es eminentemente práctico utilizar para una clasificación las diferencias esenciales que presentan las bacterias al crecer en un substrato nutritivo determinado (principalmente en la gelatina). Cuando gracias á estas diferencias se han llegado á clasificar las subdivisiones, entónces pueden utilizarse para los grupos más pequeños, ya los atributos morfológicos, ya la manera de conducirse respecto á las materias colorantes ó al oxígeno, ó el poder de provocar las fermentaciones ó las enfermedades. En fin, para diferenciar el número relativamente poco importante de bacterias que pertenecen á estos grupos y para llegar á reconocer una especie, se hacen resaltar las analogías y las diferencias respecto á otras especies. Pero no hay que considerar aquí las especies como en las ciencias naturales; tienen un carácter provisional por esencia, sólo deben servir para facilitar los conocimientos ulteriores y preparar una división natural. Se deben únicamente á las necesidades de la práctica y están conformes con ella. Por este motivo, la división hecha aquí se apoya paso á paso en el procedimiento generalmente empleado para reconocer los diferentes bacilos contenidos en una mezcla determinada. El primer punto consiste en aislarlos por medios de placas de gelatina; examínanse entónces las colonias que se desarrollan, se hacen preparaciones microscópicas con ellas y se determina si están compuestas de micrococos, de bacilos ó de espirilos. En general, se puede determinar la especie sin excesivas dificultades, porque la reunión de gran número de individuos en diferentes grados de desarrollo no permite las incertidumbres que ántes indicamos. En cuanto se ha establecido de este modo la gran división á la cual pertenece la especie que interesa, se examina la colonia con un débil aumento, se hace un simple bosquejo de ella (véase más abajo) y se determina su puesto en un grupo de especies más restringido. La diferenciación de estas últimas se verifica algunas veces por medio de una reacción muy característica, ó se necesita un estudio más complicado: exámen, observación de los cultivos por picadura ó por surco, acción en los animales, etc.

«Basándose en los caracteres morfológicos, trató anteriormente Cohn de distinguir un número mayor de géneros bacteriológicos. Pero las mismas particularidades morfológicas se encuentran en las algas inferiores; sólo la presencia de la clorofila en estas últimas las diferencia de los hongos. Este carácter no tiene importancia, como ántes dijimos. De la consideración de los atributos morfológicos resulta, pues, un sistema de esquizomicetos, que comprende los esquizomicetos y algas (spal-

talgen), sistema muy á propósito para poner en claro ciertas analogías ó ciertas diferencias entre las algas inferiores y los hongos, pero insuficiente para las numerosas especies recién descubiertas.

»Además, este sistema ya no responde á las necesidades de la práctica, porque reúne una cantidad de organismos heterogéneos y de valor desigual desde el punto de vista de la higiene. En la primera edición de este MANUAL, el profesor Flügge trató de modificar el sistema de Cohn, suprimiendo las algas, con la mira de hacerlo práctico para un grupo de lectores, y en especial para los médicos.

»Hé aquí esta clasificación: