

centro de estas colonias es morenuzco y opaco; está rodeado por una zona marginal más clara, amarillo-verdosa. La superficie de la colonia presenta una división radial poco marcada. Al desarrollarse las colonias en la superficie de la gelatina adquieren contornos irregulares, sinuosos; de la parte central oscura emanan entonces radios claramente perceptibles, ondulados, que se extienden hacia la periferia. Impresionan entonces como si existiera una segmentación ó un plegado de la colonia. Al mismo tiempo, se observa alrededor de cada colonia una fluorescencia amarillo-verdosa.

En los cultivos por picadura se observa un abundante desarrollo á lo largo del conducto de la picadura, pero sobre todo en la superficie. Comenzando desde arriba, toda la gelatina adquiere un color verde por transparencia y amarillo por la luz incidente. En la patata estos gérmenes forman una capa poco extensa, roja al principio y morena después.

Bacillus fluorescens liquefaciens.

Se encuentran con frecuencia en los substratos putrefactos, en el agua, etc. Son bacilos cortos y móviles, reunidos en grupos de dos; muchas veces están estrangulados por en medio. No se ha observado la formación de esporos. En las placas de gelatina forman puntitos blanquecinos que se desarrollan en la superficie, constituyendo colonias bastante extensas, de hasta 3 mm de diámetro, rodeadas por una zona de liquefacción anular. Con un débil aumento, estas colonias presentan una forma redondeada irregular; el centro es moreno oscuro, punteado, envuelto por una faja amarilla finamente granular, cuya periferia se vuelve gris-blanquecina y transparente. Toda la gelatina adquiere poco á poco un tinte verdoso. En los cultivos por picadura se ve que al principio se forma un revestimiento blanquecino en todo el conducto hecho por la aguja de platino; en el punto de entrada aparece un embudo, cuya parte profunda contiene un poco de gelatina líquida y en la parte superficial aire. Poco á poco se extiende la liquefacción hasta las paredes del tubo y progresa al mismo tiempo hacia abajo; en el fondo de la parte líquida se observa un enturbiamiento blanquecino. A partir desde éste, dirigiéndose hacia abajo, la gelatina es fluorescente, amarillo-verdosa; el juego de los colores es menos visible en la parte líquida. Es poco característico el revestimiento que estos gérmenes producen en las patatas.

Las formas descritas por Engelmann con el nombre de *bacterium chlorinum* y por Van Tieghem con los nombres de *bacterium viride* y de *bacillus virens*, en los cuales se observa un color verdoso de la sustancia celular, corresponden quizá también á los grupos de los bacilos que

producen sustancia verde. La especie descrita por Engelmann se presenta en forma de un bastoncillo oval, muy movable, de 2 á 3 μ de longitud. Los bacilos de Van Tieghem no están dotados de movimiento. Es posible que en estos tres casos se trate de algas inferiores; es preciso aguardar aún antes de poder decidirlo.

Bacillus luteus (1).

Bacilos cortos, de mediano grueso, sin movilidad aparente. En las placas de gelatina forman colonias profundas lenticulares ó fusiformes cuando se observan con un débil aumento. A veces son irregulares, de contornos limpios y color moreno. Las colonias superficiales son diez á veinte veces mayores y miden 2 á 3 mm de diámetro; parecen redondas, los bordes frecuentemente son sinuosos, el color es moreno claro, la periferia blanquecina y transparente. Macroscópicamente, las colonias son amarillas y opacas. En los cultivos por picadura se forma un barniz amarillento que no liquida la gelatina y que no altera su color. Este germen se encuentra con frecuencia como contaminación de los cultivos en placas.

Bacillus fuscus. (*Bacterium brunneum.*)

En 1876 aisló Schroeter en una infusión de maíz putrefacta bastoncillos que producen una materia colorante morena, designándolos con el nombre de *bacterium brunneum*. Estos gérmenes son quizá idénticos á los bacilos observados algunas veces (raras, sin embargo) en placas de gelatina, en el Instituto de Göttinga. También estos bacilos producen una materia colorante morena. Los microbios de que se trata constituyen largos bastoncillos, de extremidades truncadas y contornos irregulares en ciertos puntos. En las placas de gelatina forman colonias de color moreno, que sobresalen de la superficie. Con ayuda de un débil aumento se ven en el centro masas irregulares, moreno-negruzcas, rodeadas por una zona muy refringente. En los cultivos por picadura el desarrollo es menos característico; en la superficie de la gelatina se ve formarse alrededor del orificio del conducto una capa moreno-roja bastante gruesa y que se arruga luego.

(1) Instituto de Higiene de Göttinga.

Bacillus xynxanthus. (*Bacterium xynxanthum.* Erenberg.)

Bacilos muy movibles, observados por Schroeter (1) en la leche que accidentalmente se vuelve amarilla; transmitiendo este gérmen a la leche cocida se ve también que ésta adquiere un color amarillo de limón. La materia colorante es soluble en el agua, insoluble en el alcohol y el éter. Los ácidos la decoloran y las bases regeneran el color. No se tienen detalles acerca de estos micro-organismos.

Bacillus janthinus. (*Bacterium janthinum,* bacilo violeta.)

Zopf ha observado la formación de manchas violeta en fragmentos de vejiga de cerdo flotantes en agua que contenía hongos.

Estas manchas violeta estaban formadas por bacilos de longitud variable, susceptibles de descomponerse en filamentos más cortos. Estos bacilos son quizá los mismos que describió Hueppe y que los hallados en diversas ocasiones en el Instituto de Göttinga, los cuales producían una materia azul violácea. En las placas de gelatina, estos gérmenes forman al principio capas blancas como la leche; poco a poco se coloran de violeta en los bordes y la gelatina los presenta en toda su extensión. Al cabo de algunos días, la superficie entera de la gelatina está muy coloreada de violeta. En los cultivos por picadura sólo se colora la superficie. En la patata, estos gérmenes forman una capa de un violeta oscuro. En la leche esterilizada los bacilos forman en la crema manchas, al principio azul celeste, que se oscurecen poco a poco; al mismo tiempo se precipita la caseína y luego se peptoniza. La reacción se vuelve alcalina y se desprende amoníaco (Hueppe).

Bacillus cyanogenus. (*Bacterium syncyanum.*)

(BACILO DE LA LECHE AZUL)

Frecuentemente se ha observado en ciertas regiones que la leche se vuelve azul; a veces esta transformación aparecía epidémicamente en ciertas épocas y en ciertos lugares. De ordinario se ha considerado como circunstancia más favorable para producirse este fenómeno un fuerte grado de humedad del aire, mientras que no se ha señalado la influencia de la temperatura, de la luz, etc.

Fuchs atribuyó en 1841 ya este cambio de color de la leche a la presencia de un vibrion y había demostrado la transmisibilidad de esta alteración. Estas observaciones fueron confirmadas y extendidas por Haubner, Hermbstädt, Mosler, etc., y, en fin, por Neelsen y Hueppe

(1) *Cohn's Beitr. zur Biologie d. Pflanzen*, t. I, cuad. 2.º, pág. 120.

(véase la BIBLIOGRAFÍA). Neelsen ha descrito en este caso bacilos a quienes correspondería un extenso círculo de formas de crecimiento y en particular de cocos. Evidentemente estas observaciones se fundan en el estudio de cultivos contaminados por gérmenes extraños, que no se podían excluir por completo, dados los métodos que entonces se empleaban. Merced al método de los cultivos en placas se puede hoy aislar con mucha facilidad el agente de la leche azul.

Los bacilos que así se obtienen están dotados de un movimiento lento; tienen una longitud media de unos 2 μ (que oscila entre 1,4 y 4 μ); su espesor es como de 0,4 μ . En las preparaciones hechas por medio de la leche se ve que las dimensiones son más uniformes. A la temperatura ordinaria se observa la formación de esporos en la leche, en el mucilago de malvabisco, etc. Estos se forman en los extremos del bacilo, de tal suerte que el esporo y el microbio tienen entonces la forma de una maza. En las soluciones nutritivas desfavorables, tales como las débiles ácidas de tartrato amónico ó la solución nutritiva adicionada con nitrato potásico, se observan con frecuencia formas de involución: bacilos claviformes ó fusiformes, filamentos que presentan aquí y allá abultamientos, etc.

FIGURA 107. — *Bacillus cyanogenus.* (Bacilo de la leche azul.) 700/1.

a. Bacilos que contienen esporos.

En las placas de gelatina vense nacer al cabo de dos días puntitos blanquecinos que se desarrollan en la superficie formando gotitas de 1 a 2 mm. La placa entera adquiere desde entonces un reflejo de acero gris-azulado, de tal suerte que las colonias resaltan con mayor claridad.

Con un débil aumento las colonias profundas aparecen como discos redondeados, cuyo centro es negro, y la zona periférica granulosa, parduzca, de contornos oscuros. El centro de las colonias superficiales es moreno oscuro, la zona que le rodea es gris-parduzca; más hacia fuera se encuentra una zona estrecha, amarillenta, finamente granular, limitada por un contorno limpio. En los cultivos por picadura se observa un depósito blanquecino que ocupa sobre todo la superficie de la gelatina; a partir de ésta para abajo, la sustancia nutritiva toma un color oscuro azul de acero. En la patata se forman revestimientos mucosos amarillentos, alrededor de los cuales la sustancia misma de la patata tiene un color azul oscuro. A veces la gelatina tiene un color más

verde. La coloracion completamente verde se observa, por ejemplo, en las soluciones de tartrato amónico, de leucina, de asparragina, etc. Este color se debe á un grado menor de oxidacion de la materia colorante; pueden volverla azul las sustancias oxidantes.

Trasportando estos bacilos á la leche, no producen coagulacion ni acidificacion; ántes al contrario, la reaccion se vuelve poco á poco alcalina. Además, desde el principio, la capa de crema adquiere un color pizarroso, que se propaga paulatinamente á todo el líquido; añadiendo ácido, este color pasa al azul intenso. El color es azul celeste desde el principio, cuando al mismo tiempo se produce la fermentacion láctica en la leche no esterilizada.

La materia colorante parece producirse en la leche á expensas de la caseína, mientras que no sufre alteraciones la lactosa. Estos bacilos tienen también el poder de producir la síntesis de la materia colorante en las soluciones albuminosas que contienen lactato ó tartrato amónicos.

El máximo de temperatura para formarse la sustancia colorante corresponde á 15-18°. A partir de 25°, á medida que asciende la temperatura, se retarda esta formacion; á los 37° ya no se verifica. Esta sustancia colorante no es una anilina; no se sabe nada más acerca de sus propiedades y constitucion. Los bacilos y la misma leche azul no obran sobre los animales, ni aun cuando se inyectan en las venas.

2. Entre los bacilos que producen la fermentacion de los hidratos de carbono es preciso mencionar, sobre todo, los siguientes:

Bacillus acidi lactici. (Fermento láctico.)

Los fenómenos, conocidos desde hace mucho tiempo, de la trasformacion del azúcar de leche en ácido láctico y de la coagulacion consecutiva de la caseína, hanse atribuido á un micro-organismo, por Pasteur en primer término. Sin embargo, Lister parece haber obtenido el primero, por el método llamado de las diluciones, un cultivo puro de los bacilos de la fermentacion láctica. Las observaciones hechas en estos últimos años han modificado esencialmente los conceptos de Pasteur y de Lister, en el sentido de que recientes experiencias han demostrado que el poder de formar ácido láctico á expensas de los hidratos de carbono, y en especial de la lactosa, pertenece á gran número de gérmenes. A lo sumo, sólo existen diferencias en cuanto á la cantidad formada de dicho ácido por las diversas especies. Por ejemplo, todos los hongos del pus, y sobre todo los *staphylococcus*, tienen la misma propiedad; en igual caso están el *bacterium oxytocus perniciosus*, el *bacterium coli commune* y el *bacterium lactis aerogenes*. Lo mismo sucede con las diferentes especies descritas más léjos y halladas por

Miller en los dientes cariados; en fin, según Hueppe, el *bacillus prodigiosus* y una especie de *coccus* aislado en la secrecion bucal gozan de idénticas propiedades. Está fuera de duda que todas estas especies bactericas (en junto 15) no son las únicas capaces de producir la fermentacion láctica. Sin embargo, parece que existe realmente un determinado organismo que merece el nombre de *bacteria de la fermentacion láctica*, porque constituye el agente más frecuente de la coagulacion espontánea de la leche. Hueppe ha descrito con detalles este fermento láctico; según todas las apariencias, es el mismo que observaron Lister y Pasteur.

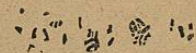


FIGURA 108. — *Bacillus acidi lactici* (700/1).

Preparacion de cultivo fresco.

Este bacilo constituye cortas células gruesas, por lo ménos dos veces más largas que anchas, casi siempre reunidas en grupos de dos ó de cuatro. Con un aumento insuficiente, la célula puede producir la ilusion de un *coccus* oval; con un aumento más fuerte, desaparece la ilusion. Según Hueppe, la longitud media de estos elementos es de 1 á 1,7 μ y el diámetro de 0,3 á 0,4 μ . Sin embargo, también se observan bastoncillos que tienen 2,8 μ de longitud. Estos bacilos no están dotados de movilidad. En las soluciones de lactosa se ven formarse esporos; éstos nacen también en la leche, y en este caso son mucho ménos visibles. Aparecen en forma de glóbulos brillantes en ambas extremidades de los bacilos. Cuando se reúnen dos gérmenes, los esporos se encuentran con frecuencia en los extremos opuestos, pero también muchas veces ocupan los extremos que se corresponden. Una ebullicion corta no mata los bacilos que contienen esporos.

Estos microbios se desarrollan con facilidad en los substratos nutritivos más diversos. En las placas de gelatina forman, desde el segundo día, colonias blanquecinas: las profundas son redondeadas, oscuras, de contornos limpios; las superficiales están rodeadas por una zona marginal un poco más clara.

En los cultivos por picadura se observa al principio en toda la longitud del conducto un tenue depósito que cada vez se vuelve más espeso y constituye en ciertos puntos glóbulos aislados. En los cultivos en raya, todas las colonias, al principio aisladas, confluyen y forman de este modo una raya blanca de bordes sinuosos.

Por medio de los cultivos puros se puede producir la fermentacion láctica en las soluciones de lactosa, de azúcar de caña, de manita, de

dextrosa. Además del ácido láctico, prodúcese también ácido carbónico. Cuando se acumula el ácido láctico en el medio nutritivo detiene la fermentación. Esta cesa cuando la cantidad producida corresponde al 0,8 por 100. Si se quiere que continúe el proceso hay que neutralizar la solución por medio de la creta. Según Hueppe, para que se produzca la fermentación láctica se necesita oxígeno; sin duda, bastan mínimas cantidades de este gas para que se forme ácido láctico en cantidad suficiente para coagular la caseína, pero para producir mayores cantidades de ácido se necesita mucho más oxígeno. La temperatura máxima varía entre 35 y 42°; la fermentación cesa a los 45° y 4. Después de introducir una pequeña cantidad de cultivo puro en leche esterilizada y dejar ésta de quince a veinticuatro horas a una temperatura conveniente, se ve que se coagula en una masa gelatinosa uniforme. Percíbense en el coágulo, aquí y allá, fisuras que contienen burbujas de CO².

Más tarde se retrae el coágulo y entonces se ve acumularse encima de él un suero claro como el agua. El coágulo no se transforma en peptona.

Parece que el fermento láctico produce una hidratación del azúcar de caña y de la lactosa, antes de determinar su fermentación. Además, tiene el poder de transformar el almidón en azúcar. (Véase más adelante FERMENTOS.)

Es preciso advertir que la caseína no se coagula sólo por la acción del fermento láctico, sino también por la de fermentos análogos al del cuajo, y que, según lo ha demostrado Duclaux en primer término, hay una serie de bacterias que producen fermentos análogos. Estos determinan la coagulación de la caseína, produciéndose una reacción anfotera (débilmente alcalina y ácida a la vez). En este caso no se forma ácido láctico. El *Bacillus butyricus*, por ejemplo, tiene esta propiedad; lo mismo sucede con el que se denomina *bacilo de la patata* (véase más abajo); igual pasa con la *sarcina amarilla*, con un *coccus* que liquida la gelatina aislado en el agua por Hueppe, y probablemente también con otras muchas bacterias. Además, estos gérmenes tienen con frecuencia la propiedad de peptonizar la gelatina.

Bacillus butyricus. (*Clostridium butyricum*. — *Bacillus amilobacter*.)

Es probable suceda con la fermentación butírica como con la fermentación láctica, y que varias bacterias tengan el poder de producir esta transformación de los hidratos de carbono. Entre estos gérmenes no están comprendidos aquellos que pueden producir ácido butírico por medio de otros materiales (como los bacilos del pus azul por medio de la glicerina). Pasteur, Prazmowski, Fitz y Hueppe han descrito baci-

los que producen la fermentación butírica. Por las descripciones podemos colegir que difieren en parte unos de otros.

Algunos de ellos no se han estudiado lo suficiente para poder fallar sobre su identidad.

Según las investigaciones hechas en el Instituto del profesor Flüge, el número de los bacilos que pueden producir la fermentación butírica es muy grande probablemente; pero, con la mayoría de ellos, por el hecho de ser anaerobios, no se han podido obtener cultivos puros ni, por consiguiente, dar su característica. Para distinguirlos, debemos aguardar al resultado de nuevas investigaciones. A continuación describiremos lo primero el bacilo de la fermentación butírica descubierto por Prazmowski, bacilo que se parece muchísimo a los descritos por Pasteur y Van Tieghem (sin embargo, estos autores no han obtenido verdaderos cultivos puros). En segundo lugar se describirá un esquizomizeto anaerobio que provisionalmente separaremos del anterior. Liborius ha estudiado con exactitud este bacilo; sólo faltan detalles precisos acerca de la actividad fermentadora de este germen; sin embargo, parece ser idéntico al bacilo de Prazmowski. En fin, Hueppe aisló en la leche una tercera especie, la cual difiere de las anteriores esencialmente por su carácter de germen aerobio.

Bacillus butyricus (Prazmowski). — Bastoncillos de 3 a 10 μ de longitud y 1 μ ó algo menos de diámetro. Forman con frecuencia cadenas ó filamentos que parecen sencillos, no articulados. Casi siempre son muy móviles; algunas veces están en reposo y reunidos en zoogleas. Al cabo de algún tiempo, los bacilos cesan de desarrollarse en longitud y se vuelven más gruesos. Los gérmenes más cortos se engruesan principalmente en la región media y adquieren entonces una figura fusiforme. Los más largos se engruesan en una extremidad y entonces tienen la forma de renacuajos. El espesor de los bastoncillos hinchados corresponde desde 1,8 a 2,6 μ . Al mismo tiempo que se produce el abultamiento, el protoplasma se vuelve más refringente y la membrana se engruesa. Después se observa la formación de esporos, que tienen 2 a 2 $\frac{1}{2}$ μ de longitud y 1 μ de diámetro.

Quedan libres disolviéndose la membrana. La germinación de los esporos se produce de tal manera que en una de las extremidades de éstos desaparece el doble contorno de la membrana, presentándose entonces en este punto la prolongación germinativa. El eje longitudinal de este nuevo germen corresponde, pues, al eje longitudinal del esporo. La gruesa membrana de este último no se retrae; durante largo tiempo puede permanecer aún adherida a los jóvenes bacilos.

El *Bacillus butyricus* es un verdadero anaerobio; todas sus funciones parecen ser independientes de la presencia del oxígeno y hasta parecen suspenderlas las grandes cantidades de éste. Sólo en ausencia del

oxígeno parece verificarse la formación de los esporos y en particular su germinación. Por este hecho difiere el *bacillus butyricus* del *bacillus subtilis*, con el cual tiene analogías. Además, los esporos del *bacillus butyricus* no son tan resistentes como los del *bacillus subtilis*; basta para matarlos un calor de 100° sostenido durante cinco minutos.

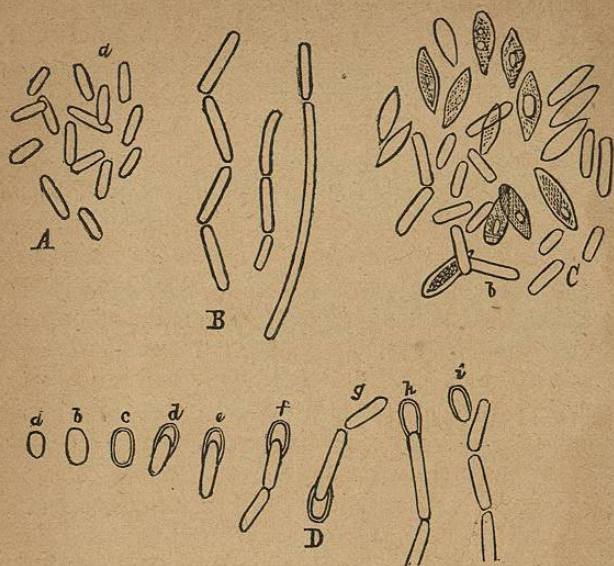


FIGURA 109. — *Bacillus butyricus* (según Prazmowski). 1020/1.

A y B. Colonias y cadenas de bacilos. — C. Colonias con bacilos hinchados, fusiformes y bacilos que contienen esporos. — D. Germinación de los esporos: a, b, c, ... i, estadíos sucesivos de la germinación.

Es fácil provocar intensas fermentaciones por medio del *bacillus butyricus*. En las soluciones de almidón, dextrosa, azúcar ó lactatos, el *bacillus butyricus* produce en pocos días considerables cantidades de ácido butírico, con simultánea formación de anhídrido carbónico y de oxígeno. Los vasos que contienen las soluciones nutritivas necesarias para los ensayos deben estar herméticamente cerrados y desalojar todo lo posible el aire que contengan. La fuerte presión que los gases producidos ejercen sobre el líquido no interrumpe el desarrollo del bacilo, ni la fermentación. Este bacilo debe considerarse como la causa de la fermentación butírica que se observa en la leche vieja y en el queso maduro. En la leche no comienza la fermentación butírica hasta que un activo desarrollo del fermento láctico no haya transformado la mayor parte de la lactosa en ácido láctico. Esto sucede, ya porque, siendo aerobio el fermento láctico, quita al líquido el oxígeno suficiente para

permitir que se desarrolle el *bacillus butyricus*, ó ya porque debe producir una hidratación previa de la lactosa, es decir, preparar las sustancias fermentescibles. La máxima temperatura favorable corresponde á 35-40°. Lo mismo que en la fermentación láctica, hay que añadir también aquí creta, para impedir que se acumule ácido butírico en el líquido. Según Fitz, también estos bacilos tienen el poder de disolver lentamente la caseína, pero no pueden producir la fermentación ó la coagulación de la leche fresca, puesto que no gozan de la propiedad de hacer fermentar la lactosa. El *bacillus butyricus* tiene la notable propiedad de poder formar en ciertas condiciones una combinación (granulosa), que en presencia del yodo se colora de azul ó de violeta. Esta reacción se observa sobre todo cuando se cultiva el bacilo en un substrato que contiene fécula; pero aún cuando falte ésta y en su lugar haya celulosa, lactato de cal ó glicerina, puede observarse lo mismo. Esta sustancia parece producirse rara vez en las soluciones de dextrina ó de azúcar. Los bastoncillos jóvenes se coloran de azul puro, y los más viejos adquieren una coloración violeta, oscura; en algunos sólo se colorean zonas transversales, mientras que, por el contrario, otros se colorean en toda su extensión (por lo demás, compárese con el *leptothrix*, el *bacillus polymixa* y el *bacillus pastorianus*, descritos más abajo).

Quizá el *bacillus butyricus* pueda producir también otras fermentaciones; por ejemplo, la de la celulosa. Según Tappeiner, conforme sea la composición del medio nutritivo, produce, ora metano, ácido carbónico é hidrógeno sulfurado, ora hidrógeno y ácido carbónico. (Véase más adelante el capítulo de las FERMENTACIONES.) La descomposición de la celulosa muy probablemente tiene cierta importancia técnica, por ejemplo, para la preparación del lino, y quizá también cierta importancia fisiológica para la digestión de la celulosa en los herbívoros. (Van Tieghem atribuyó la propiedad de descomponer la celulosa á un *bacillus amylobacter*, que ulteriormente declaró ser idéntico al *bacillus subtilis*, designado por Pasteur como agente de la fermentación butírica.)

El *bacillus butyricus* parece hallarse extraordinariamente difundido; se le encuentra en el polvo del heno, en las más diversas infusiones vegetales en vías de putrefacción, en la col fermentada (sauer-kraut, choucroute), en el queso viejo, en la leche conservada por mucho tiempo y, según Deherain y Maquenne (1), en la tierra laborable. También se encuentra en las células de las plantas lechosas. Merced á particularidades morfológicas, Van Tieghem ha demostrado su existencia en las coníferas fósiles de los terrenos carboníferos.

Bacillus Liborii, formador de ácido butírico. — Los caracteres morfoló-

(1) Bull. Soc. chim., 39. Comptes rendus, 97.