

Segun Buchner, para obtener con la mayor seguridad el *bacillus subtilis*, es preciso mantener el heno con la menor cantidad posible de agua á una temperatura de 35°, filtrar á través de una tela metálica, y evaporar hasta que el líquido tenga un peso específico de 1004. Entonces se toman unos 500 c. c. de este líquido y se ponen en un matraz tapado con uata; en seguida se calienta éste durante una hora, hasta formarse un ligero vapor. Despues de tratar así el líquido, si se mantiene durante cuarenta y ocho horas á 36°, se forma en la superficie una película constituida por *bacillus subtilis*. Sólo cuando la reacción es excepcionalmente ácida hay que neutralizar el líquido ántes de hervirlo.

En las placas de gelatina el *bacillus subtilis* forma pequeñas colonias blanquecinas, que con un débil aumento tienen una coloración moreno-amarillenta.

El borde es irregular y se ven desprenderse de él numerosas prolongaciones tenues. Más tarde, vese aparecer alrededor del centro oscuro una zona estrecha más clara, á la cual sigue una zona marginal gris, radiada. Al mismo tiempo, la gelatina se liquida con energía. En el agar forma este microbio una película espesa y arrugada. En la patata da lugar á la formación de gruesas capas blanco-amarillentas, que al segundo día parecen húmedas, vellosas; en fin, en diferentes sitios de la superficie, y por último en toda la extensión de la capa, se ven aparecer gránulos blancos, secos. En último término, el cultivo está como espolvoreado de una masa blanca y granulosa.

Estos bacilos tienen grandísima necesidad de oxígeno; sólo en presencia del aire se verifican de un modo normal el crecimiento, la multiplicación y la formación de los esporos.

En vasos privados de aire no se produce desarrollo apreciable á simple vista. En condiciones vitales desfavorables, el *bacillus subtilis* produce las más variadas formas de involución. En el microscopio tienen estas últimas un aspecto grasiento particular. Segun Buchner, estas formas de involución se presentan sobre todo cuando el contenido hidrocarbonado de las soluciones nutritivas supera en mucho al contenido nitrogenado. El mismo autor ha visto que diferencias poco importantes en la composición del substrato nutritivo producían ciertos cambios de forma de los bacilos y, sobre todo, modificaciones en su espesor.

El *bacillus subtilis* no parece producir fermentación especial; ante todo, no produce la fermentación de los hidratos de carbono. Evidentemente, los primitivos datos acerca de este germen tenían por base su confusión con el *bacillus butyricus* y con otros gérmenes. Más recientemente, Vandervelde ha pretendido que el *bacillus subtilis* tenía la propiedad de producir una fermentación cuando vivía al abrigo del

oxígeno. Vandervelde ha tratado de demostrar este hecho por un análisis exacto del substrato nutritivo en el cual ha vegetado durante larguísimo tiempo un cultivo puro del *bacillus subtilis*. Encuentra que hay consumo de glicerina ó de glucosa y producción de ácido láctico, de ácidos grasos volátiles, de ácido carbónico y de hidrógeno. Pero todas estas sustancias se forman en cantidad tan débil, y al cabo de tanto tiempo (uno ó dos meses), que esto no puede llamarse fermentación propiamente dicha. Además, en las investigaciones de Vandervelde no se determina la cantidad absoluta de los gases y no hay garantía alguna de pureza en los cultivos; de suerte que, también por esta razón, tales ensayos, siempre interesantes para el estudio de la nutrición de los bacilos, no pueden invocarse como una prueba rigurosa de que el *bacillus subtilis* provoca una fermentación. Por el contrario, hay que hacer resaltar, como transformación importante provocada por este germen, la peptonización de la albúmina (suero sanguíneo) y de la cola. Esta propiedad se comprueba ya por la manera que tiene de crecer en los cultivos. Respecto á la transformación de este germen en bacilo del carbunco, véase más arriba.

#### *Bacillus aerophilus.*

Encontrado por Liborius en el Instituto de Higiene de Göttinga, por efecto de contaminaciones accidentales. Bastoncillos delgados, cuyo grosor es casi dos tercios del *bacillus subtilis* y la longitud variable; con frecuencia están adheridos varios bastoncillos y forman pseudo-filamentos rectos ó curvos. En las preparaciones sin colorear compruébase á veces alrededor del bacilo la existencia de una tenue cubierta. En el agar-agar este germen forma esporos aislados, ovales, brillantes. En placas de gelatina forma, al cabo de cuarenta horas, colonias puntiformes que, vistas con un débil aumento, son claramente limitadas, ovales ó piriformes.

Su color es amarillo-verdoso. Bien pronto comienza una enérgica liquefacción de la gelatina. Mientras que las colonias han crecido poco y la mayor parte no están alteradas, la gelatina de la placa entera está liquidada en su superficie.

En el cultivo por picadura se forma un ancho embudo de liquefacción, semejante á un saco. La parte superior gris-amarillenta es opaca, al paso que la parte inferior está más clara y enturbiada únicamente por algunas manchas. En la patata producen estos bacilos películas amarillentas, de superficie lisa, brillo mate, parecido al de la parafina. Más tarde, la superficie se vuelve más seca en la periferia, es débilmente granulosa y, á causa de las desigualdades, presentan un dibujo radiado. Entre los hongos hasta aquí examinados, este bacilo es el que



más oxígeno necesita; no se desarrolla sino en la superficie de la gelatina. Cuando disminuye relativamente poco la cantidad de oxígeno, cesa de formar colonias.

5. Entre los llamados *bacilos de las patatas* (*kartoffelbacillen*), que se desarrollan fácilmente en este medio de cultivo y que se observan con frecuencia como impurezas, merecen señalarse:

*Bacillus mesentericus fuscus* (1).

Se encuentran en el polvo del heno, en las mondaduras de las patatas, en el aire, etc. Bacilos cortos, muchas veces reunidos en grupos de dos ó cuatro, muy móviles. Forman pequeños esporos brillantes, dispuestos con irregularidad.

En las placas de gelatina producen colonias blanquizcas, redondeadas. Con un débil aumento, estas colonias presentan al principio contornos limpios; más tarde tienen prolongaciones tenues. Su color es amarillo y su superficie finamente granular. La liquefaccion de la gelatina se verifica con rapidez. En los cultivos por picadura se observa al principio un enturbiamiento blanquecino á lo largo del conducto de inoculación y al mismo tiempo, alrededor de la entrada de este conducto, se forma un embudo de liquefaccion que se extiende hasta las paredes del tubo, en el término de cuatro á seis días. La capa líquida superficial contiene grumos gris-blanquecinos. En la patata producen, al cabo de un día, una capa blanca, lisa, cuya superficie no tarda en arrugarse y adquiere una coloración morena, al cabo de muy corto tiempo. Esta formación es relativamente delgada y no penetra muy profundo en la patata, cuya superficie recubre con rapidez.

*Bacillus mesentericus vulgatus* (2).

Muy difundido y designado de ordinario con el nombre de *bacilo de la patata* (*kartoffelbacillus*). Bacilos algo más voluminosos que los anteriores, dotados de un movimiento de oscilación. Forman con frecuencia pseudo-filamentos y producen esporos globulosos. En placas de gelatina, las colonias formadas por estos gérmenes son blanco azulado, casi transparentes. Más tarde, el centro de la colonia es blanco y opaco. Las colonias de la superficie pueden tener hasta 1 centímetro de diámetro. Estas se hundén en la gelatina líquida. Con un débil aumento, se ve que constituyen discos oscuros, claramente granulares

(1) Instituto de Higiene de Göttinga.  
(2) Instituto de Higiene de Göttinga.

y de bordes rugosos. En los cultivos por picadura se produce al principio una liquefaccion en embudo; luego, más tarde, se extiende ésta á toda la capa superficial. En la parte liquefacta flotan numerosos grumos grises; en su superficie existe una tenue membrana gris-blanquecina, rugosa. En el fondo del embudo de liquefaccion se ve acumularse una masa grumosa espesa. Hacia abajo aún se ve en los primeros días el resto del trazo de inoculación, revestido de una espesa capa blanca. En la patata forman estos bacilos un barniz blanco, muy grueso, plegado desde el principio y que se extiende con rapidez por toda la superficie. Cuando se quiere quitar esta película se nota que penetra muy profundamente en la patata. Las partes quitadas se adhieren por medio de una sustancia viscosa á la superficie de la patata, de tal suerte que se la puede estirar en largos filamentos.

Segun Hueppe, los bacilos no producen sustancia mucosa en el azúcar, pero tienen una enérgica acción diastásica. Además coagulan la leche y recubren el coágulo con una espesa capa mucosa, que poco á poco se redisuelve casi por completo.

*Bacillus liodermos* (1).

Pequeños bacilos cortos, de extremidades redondeadas, muy móviles. Forman colonias irregulares que flotan en forma de pequeñas películas blancas en la superficie de la gelatina rápidamente líquida. En los cultivos por picadura liquidan toda la parte superficial. En el fondo de la masa liquefacta se encuentran numerosos grumos gris-amarillentos. Por debajo el trazo de inoculación está recubierto de un depósito gris. En la patata dan lugar á la formación de un barniz liso y brillante, que se propaga con rapidez á toda la superficie de aquélla. Sólo al cabo de algunos días la superficie lisa se vuelve turbia y rugosa, sin que se formen, sin embargo, pliegues profundos, como sucede con el anterior.

*Bacillus multipediculus* (2).

Bacilos largos y delgados, inmóviles. Examinadas con un débil aumento las colonias en placa de gelatina, se presentan como discos oscuros, redondos ú ovales, de contornos salientes. En la periferia de éstos se ven en ciertos puntos destacarse prolongaciones relativamente anchas. Estas últimas están segmentadas y compuestas de pelotas re-

(1) Instituto de Higiene de Göttinga.  
(2) Instituto de Higiene de Göttinga.



dondas colocadas unas junto á otras. Van disminuyendo de volúmen á medida que se alejan de la colonia. Por lo comun estas prolongaciones forman radios. Algunas veces se encorvan y adoptan entónces una disposicion concéntrica. Al cabo de dos ó tres días se comprueba á simple vista que las colonias blancas y ovals de la superficie presentan análogas prolongaciones. La colonia acaba por recordar la figura de un insecto con muchas patas y antenas.

En el cultivo por picadura es ménos característico el desarrollo; tambien aquí se forma gradualmente una serie de cortas prolongaciones aisladas del barniz blanquecino que reviste las paredes del conducto. En la patata forman estos bacilos un barniz amarillo sucio, de extension moderada y superficie lisa. Las partes de la patata situadas junto al borde del cultivo presentan una coloracion oscura. Se encuentra con bastante frecuencia este microbio como contaminacion accidental de los cultivos en patata.

6. Entre los demas bacilos hallados frecuentemente en Göttinga, es preciso mencionar:

*Bacillus ramosus liquefaciens.*

Bacilos bastante grandes, dotados de un movimiento lento. Las extremidades son obtusas. En las placas de gelatina forman colonias características, las más jóvenes de las cuales se muestran en la profundidad en forma de discos redondeados y oscuros. El borde está como guarnecido de pelos. Las colonias superficiales presentan los mismos caracteres, pero de ordinario son ovals ó piriformes. A simple vista nótese además que por la liquefaccion circunscrita de la gelatina se forma un embudo de bordes claramente cortados. Algunos días más tarde la liquefaccion no se extiende por la superficie, pero el embudo, claramente limitado, se ha hecho más profundo; tiene 2 á 3 mm de diámetro; además está rodeado por varias zonas concéntricas, que se distinguen unas de otras por su coloracion. En general estas zonas tienen un color gris-blanquecino, análogo al del cristal ópalo. Estas capas resaltan particularmente cuando se observan sobre un fondo negro. En los cultivos por picadura y en la entrada de la misma, este gérmen produce una excavacion poco profunda, en forma de embudo. Por bajo de éste el conducto de la picadura presenta una serie de prolongaciones perpendicularmente dispuestas. Las que están situadas cerca de la superficie, sobre todo, penetran muy adentro en la gelatina, al paso que cada vez se vuelven más cortas á medida que profundizan. Poco á poco se extiende la liquefaccion de la gelatina á toda la superficie y ocupa una zona cada vez más extensa. Observado por Praussnitz como contaminacion accidental.

*Bacillus mycoides.*

(BACILO DE LA TIERRA. — ERDEBACILLUS)

Bacilos bastante largos, con una longitud aproximadamente igual á la de los bacilos del carbunco. Son móviles y producen con frecuencia largos filamentos. En éstos se forman esporos ovals muy brillantes, á distancias regulares entre sí. Tambien se observan en los bacilos aislados. El espora ocupa casi el medio del bacilo. En las placas de gelatina estos microbios producen un enturbiamiento blanco, en el cual resaltan finos filamentos blanquizcos, irregulares, tortuosos, ramificados. A las diez horas alcanza ya esta red de filamentos las dimensiones de unos 10 mm. En este caso recuerda el micelio de un moho, hasta el punto de poderse dudar si se trata de éste ó de una colonia de esquizomicetos. Miétras se hallan en lo profundo de la gelatina, los filamentos son tenues y delgados. Al llegar á la superficie pierden sus limites precisos y se propagan con rapidez. Las colonias separadas reúnense pronto por estos filamentos. Con un débil aumento se ve que están compuestos de bacilos. Estos últimos están, de ordinario, poco unidos unos con otros, pero, sin embargo, algunas veces forman un fieltro apretado. Con frecuencia son curvos ó angulosos. Por efecto de la penetracion de los filamentos en la superficie de la placa, se ve que se liquidan las capas superficiales de la gelatina que se habian enturbiado. En los cultivos por picadura vense partir del conducto de inoculacion finos filamentos que penetran en series compactas en la gelatina. Más tarde, al liquidarse ésta progresivamente, se borran los caracteres de crecimiento.

El *Bacillus mycoides* produce en la patata una capa mucosa blanca, que progresa con lentitud. Estos bacilos se observan de un modo casi constante en las capas superficiales de la tierra (en la de jardin, campo, etc.), ora se siembre directamente esta tierra en la gelatina, ora se use el agua con que se ha lavado aquélla para hacer los cultivos en ésta.

7. Otros autores han descrito tambien, con más ó ménos exactitud, las especies siguientes:

*Bacilos de los excrementos* (Bienstock).

Los ha encontrado Bienstock de un modo constante en los excrementos (véase la BIBLIOGRAFÍA). Se parecen al *Bacillus subtilis*, pero no tienen movimientos propios y forman con frecuencia largos filamentos. En estos últimos, y tambien en los elementos aislados, se ven for-



marse esporos, uno en cada bastoncillo, más rara vez dos. De ordinario están más próximos á uno de los polos que al otro. El espora tiene las mismas dimensiones que el del *bacillus subtilis*. Se colorea en toda su extension por la fuchsina anilina, cuando se hace obrar el calor al mismo tiempo. El ácido nítrico no lo decolora entónces. El azul de metileno sólo colorea la periferia de la célula. El espora germina del modo siguiente: la forma elipsoidal de ambos polos del espora se vuelve cilíndrica poco á poco, y la sustancia de los bastoncillos así formados avanza progresivamente hasta el medio del espora, donde se reúnen.

Uno de estos bacilos se desarrolla en el cultivo por picadura, en la gelatina, en forma de una tenue membrana cubierta de ramificaciones de color blanquecino, reunidas entre sí por pequeñas anastomosis. La segunda especie de estos bacilos presenta un cultivo de superficie blanca deslumbradora, lisa al principio, desigual más tarde, y con prolongaciones en forma de racimos. En diez ó doce horas invaden toda la superficie del medio nutritivo.

*Bacterium Zopfii.*

Encontrado por Kurth en el intestino de las gallinas. Bacilos ovaes, de  $\frac{3}{4}$  á 1  $\mu$ . de diámetro; la mayoría están dotados de un movimiento muy activo. Forman largos filamentos, que cuando se desarrollan en la gelatina presentan múltiples circunvoluciones, que llegan á formar elementos espirales, trenzados como matas de cabellos, ó encorvados en todas las direcciones posibles.

El *bacterium Zopfii* forma siempre en los líquidos filamentos rectilíneos. Kurth deduce de esto que las curvas se producen por efecto de influencias mecánicas, porque, dada una longitud determinada del filamento y lo rápido del desarrollo, es mayor la resistencia que á este último opone la gelatina que la rigidez de la membrana. Al cabo de algun tiempo estos filamentos forman pelotas compactas y se dividen en elementos más cortos, de 5 á 50  $\mu$ . de longitud; entónces se desarrollan estos trozos más pequeños, y casi todos se encorvan lateralmente fuera de la direccion primitiva de los filamentos. Algun tiempo despues cesa el desarrollo y se produce la division en elementos glubulosos (designados por Kurth y Zopf con el nombre de cocos). Estas series de cocos permanecen reunidas en pelotones, que cuando se siembran en la gelatina dan origen ya al cabo de diez y seis horas á nuevos bastoncillos y filamentos. Entónces se producen las formas redondeadas, cuando las materias nutritivas impiden el agotamiento.

No se multiplican por division, pero en circunstancias favorables pueden germinar formando cortos bastoncillos. Verdad es que apare-

cen cocos por parejas, en forma de bizcochos, que, segun Kurth, no pueden considerarse sino como fases más ó ménos avanzadas de la division de un bastoncillo en dos filamentos. Estos cocos, dispuestos por pares, tienen á veces movimientos. Es muy importante el modo como resisten á la desecacion estos elementos: al paso que mueren los bastoncillos cuando se desecan durante un tiempo que varía entre cincuenta y dos y ciento ocho horas, la muerte de los primeros no se verifica sino entre diez y siete y veintisiete días. Hasta en la solucion nutritiva agotada conservan los cocos sus propiedades germinativas durante larguísimo tiempo, aún más allá de ochenta y dos días. Segun las propiedades biológicas de estos elementos y conforme á la defini-

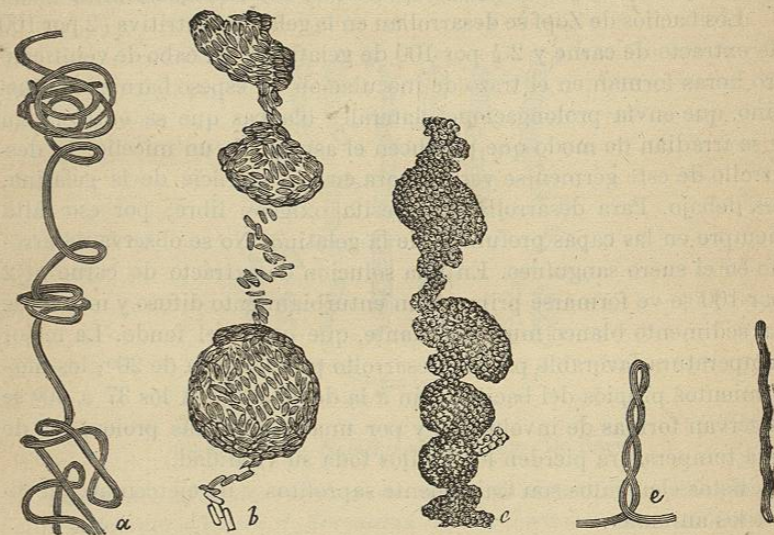


FIGURA 126. — *Bacterium Zopfii* (Kurth). 740/1.

a. Filamentos. Formacion de la pelota al principio. — b. Division en bastoncillos. — c. Division en elementos redondeados. — e, f. Filamentos análogos á los espirilos y á las espirulinas.

cion de los *coccus* y de los *esporos* dada más arriba, las formas observadas por Kurth deben considerarse como esporos. Sin embargo, algunos hechos hablan contra esta hipótesis: primero, el de que las células redondas del *bacillus Zopfii* no son en esencia más refringentes que las formas bacilares; además, se coloran de un modo muy intenso por el moreno de anilina; en fin, las temperaturas elevadas tienen la misma accion sobre los bacilos y sobre los gérmenes redondos. Pero la refringencia de las células, la falta de coloracion y la resistencia al calor no



se han dado como caracteres indispensables para clasificar una célula entre los esporos. Esto no podía suceder sino en el largo tiempo que sólo se habían estudiado en un número restringido de esporos sus propiedades generales. Los dos criterios esenciales de un espora son: la resistencia á ciertos influjos exteriores necesarios para conservar la especie, y sobre todo la resistencia á la desecación; despues, la falta de multiplicación propia y de la propiedad de desarrollarse en un organismo análogo al organismo materno. Estas dos condiciones las llenan con exactitud las células redondas del *bacillus Zopfi*; de aquí debemos deducir que son esporos diferentes de los conocidos, por el hecho de que su resistencia depende ménos de una condensación del contenido celular que de una modificación posible de la membrana.

Los bacilos de Zopf se desarrollan en la gelatina nutritiva (2 por 100 de extracto de carne y 2 ½ por 100 de gelatina). Al cabo de veinticuatro horas forman en el trazo de inoculación un espeso barniz blanquecino, que envía prolongaciones laterales blancas que se entrecruzan y se irradian de modo que producen el aspecto de un micelio. El desarrollo de este germen se verifica, ora en la superficie de la gelatina, ora debajo. Para desarrollarse necesita oxígeno libre; por eso falta siempre en las capas profundas de la gelatina. No se observa desarrollo en el suero sanguíneo. En una solución de extracto de carne al 2 por 100 se ve formarse primero un enturbiamiento difuso y más tarde un sedimento blanco muy abundante, que ocupa el fondo. La mejor temperatura favorable para el desarrollo parece ser la de 20°; los movimientos propios del bacilo cesan á la de 33 á 37°. A los 37 á 40° se observan formas de involución, y por una acción más prolongada de esta temperatura pierden los bacilos toda su vitalidad.

Estos elementos son únicamente saprofitos y no ejercen acción sobre los animales.

#### *Bacillus megaterium* (De Bary).

Observado en primer término por De Bary, en las hojas de col cocidas. Bastoncillos de 2 ½  $\mu$  de longitud. La forma es cilíndrica, con extremos redondos. Se vuelven cinco á seis veces más largos y en seguida se dividen en dos mitades. Por medio del alcohol ó de la tintura de iodo, los bastoncillos se ven compuestos de elementos ménos voluminosos. Estos no son completamente rectos, sino encorvados en forma de arco. A veces constituyen cadenas, que sólo contienen un número poco considerable de elementos. Los bastoncillos se mueven de un modo lento y continuo. No tienen pestañas vibrátiles.

Ulteriormente se ve que los bastoncillos están formados por cuatro á seis células isodiamétricas, separadas unas de otras por delicadas

membranas. En seguida aparece en el interior de la célula un pequeño cuerpo redondeado, muy refringente, que aumenta de volumen de un modo progresivo, mientras que el protoplasma celular desaparece poco á poco. Al cabo de algunas horas, este corpúsculo constituye un espora cilíndrico alargado, muy refringente, de brillo azulado. Poco á poco se atrofia la membrana de la célula madre y el espora queda libre. Mientras se forman los esporos se retarda poco á poco el movimiento de los bastoncillos, sin cesar nunca por completo. Durante la germinación se ven al principio desaparecer los contornos oscuros del espora y su intensa refringencia; entónces aumenta poco á poco de volumen hasta alcanzar el diámetro de los bastoncillos. Cuando ha llegado á

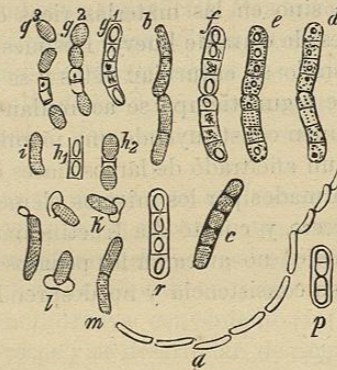


FIGURA 127. — *Bacillus megaterium* (De Bary).

a. Filamentos de bacilos (650/1). — b. Bastoncillos (600/1). — p. Despues de la acción del iodo. — e, f. Formación de los esporos. — g... m. Germinación de los esporos.

estas dimensiones, se ve desprenderse de la superficie, con frecuencia de una vez, una tenue membrana bilobular, dividida trasversal ú oblicuamente, y entónces se desliza fuera del espora la célula del bastoncillo, rodeada por una tenue membrana. Estos bacilos se desarrollan á la temperatura de 20° en una solución de glucosa y de extracto de carne, ó en el extracto de carne solo ó adicionándole gelatina. Esta no se liquida.

#### *Bacillus tumescens* (Zopf).

Observado por Zopf en rodajas de zanahorias cocidas y moderadamente húmedas. En este caso forma una membrana blanquecina, viscosa y plegada, que consiste en pequeñas masas gelatinosas redon-