

de. En el caso de que se trate de aislar gérmenes patógenos, esta hipótesis quizá sea justa; pero allí donde existan gran número de saprofitos de especies variadas, pocas esperanzas habrá de lograr por esta vía una separación perfecta.

A veces podrá prestar grandes servicios el combinar los métodos de las placas y de las diluciones.

El método de los cultivos puros debe adquirirse necesariamente por un aprendizaje. Para este efecto, se puede recomendar el cultivo del *bacillus prodigiosus* en patata, gelatina, etc., á diferentes temperaturas; el cultivo del *bacillus anthracis* en patata, gelatina-peptona, suero y una serie de generaciones en substratos líquidos, á diversas temperaturas; el cultivo á baja temperatura (15 á 20°) del *aspergillus flavescens* en patatas, etc. Si aquellos que se ocupan de los cultivos de hongos y que tratan sobre todo de resolver esta difícil cuestión del aislamiento de las especies patógenas se ejercitaran ántes de una manera conveniente, aparecerían muchas ménos de esas publicaciones tempranas, tan poco provechosas para la ciencia.

Cuando se ha logrado obtener el cultivo de un hongo, aún es necesario establecer cuáles son sus caracteres morfológicos y biológicos. Es preciso hallar cuáles son las sustancias y la temperatura que mejor les convienen y en qué medida les es necesaria la presencia del oxígeno. Es menester, además, ver si provoca alguna fermentación y, con este fin, es preciso añadir á las sustancias nutritivas las materias fermentescibles más importantes (hidratos de carbono, alcoholes, ácidos grasos, albúminas, etc.). También hay que estudiar las propiedades patógenas que puedan corresponder á este microbio y, para eso, practicar numerosas inoculaciones en los ratones, las cobayas, los monos, etc.

Deben hacerse estas investigaciones por medio de dosis más ó ménos fuertes, y las inoculaciones unas veces serán superficiales y otras, por el contrario, se harán por inyección en el tejido celular subcutáneo ó en la sangre. Si los animales se ponen enfermos ó se mueren, es preciso entonces hacer por medio de su sangre inoculaciones y dejar probada la identidad de los hongos encontrados y de los que se inocularon. Todas estas investigaciones deben hacerse gran número de veces. Además, es preciso estudiar las condiciones de extinción de estos micro-organismos, y en especial la atenuación de las propiedades patógenas; en fin, establecer cuáles son las condiciones exteriores que producen con más facilidad su muerte y cuál es el mejor desinfectante que les conviene.

III. — EXÁMEN BACTERIOLÓGICO DEL AIRE, DEL AGUA Y DE LA TIERRA

a) Aire.—En vano se intentó en otros tiempos, por la fijación en superficies viscosas y por el examen microscópico, tener una noción exacta del número y especies de bacterias contenidas en la atmósfera. Actualmente se emplean métodos que tienden lo primero á producir el desarrollo de las especies bacterianas ántes de contarlas. Miquel (véase la BIBLIOGRAFÍA) ha empleado con este fin un substrato nutritivo líquido, un caldo preparado poco más ó ménos segun la fórmula dada más arriba. Lo coloca en un gran número de pequeños aparatos que presentan la forma indicada por la figura 156.

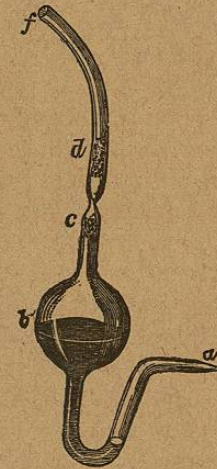


FIGURA 156. — Aparato de Miquel para el examen del aire.

Cuando se procede al examen del aire éstos se esterilizan y se ponen en un pie. La extremidad *f* se reúne á un aspirador; la punta *a* se calienta de nuevo y despues se rompe. Se deja pasar á través del caldo un volumen de uno á tres litros de aire, y luego se cierra el extremo *a*. Se sopla entonces el tapon de uata *c*, que puede haber retenido algunos gérmenes en el líquido, y se ponen los aparatos en una estufa. Para cada ensayo se utilizan veinte á treinta de estos aparatos. Al cabo de un tiempo muy largo puede verse en cuántos de estos aparatos se ha manifestado una alteración del caldo y, por consiguiente, un desarrollo de bacterias. Si esto no ha sucedido en todos, sino sólo en parte de estos aparatos, se admite que en cada uno de ellos ha pe-

netrado un germen. El número de aparatos en los cuales se observa algun enturbiamiento da el número de gérmenes que se encontraban en el volúmen de aire absorbido por todos. Si no se ha alterado ningun aparato, ó si se han enturbiado todos, entónces debe repetirse el ensayo con cantidades más grandes ó más pequeñas de aire. Si todos presentan un enturbiamiento, hay allí un minimum de gérmenes que determinar, pero no es posible una verdadera numeracion, en virtud de que cada enturbiamiento no sólo puede provenir de un germen, sino tambien de varios.

Segun se ve, el valor práctico del método se funda en la hipótesis de que la distribucion de los gérmenes en la atmósfera es uniforme y que éstos no se aglomeran. Pero, segun todas las observaciones hechas, no sucede así. Por el exámen microscópico directo se puede demostrar la presencia en la atmósfera de un gran número de masas de bacterias. Añádase que el método es complicado y que no permite variar convenientemente el medio de cultivo.

Hesse (véase la BIBLIOGRAFÍA) ha tratado de utilizar los medios sólidos para el exámen del aire. Se prepara un tubo de cristal de 70 centímetros de longitud y de 3 á 5 centímetros de diámetro con 50 c. c. de gelatina nutritiva, de tal manera que ésta recubra toda la pared y forme una capa espesa en la parte de ésta que se halla dirigida hácia abajo. Uno de los extremos se cierra con un tapon de cautchuc por el cual pasa un tubo de cristal, cerrado á su vez con un taponcito de uata; este tubo se reúne á un aspirador. El otro extremo del tubo grande se cierra por medio de una membrana de cautchuc atravesada por un agujero para que permita la entrada del aire. El tubo se coloca horizontalmente en un pié.

Los gérmenes contenidos en el aire caen sobre la gelatina casi siempre en seguida que penetra y se desarrollan en ella en forma de colonias que se pueden contar. De este modo se obtienen imágenes muy instructivas, pero este método no da resultados exactamente comparables. Por una parte, es difícil reproducir la fuerza exacta de la corriente de aire (corriente regulada de tal manera que los gérmenes no atraviesen el tubo, ni se depositen demasiado al principio); por otra parte, la gelatina cuya superficie se deseca no produce ya un medio favorable para el desarrollo de las bacterias y, por último, las masas de bacterias dan lugar á la formacion de colonias sencillas lo mismo que los individuos aislados.

Los demás ensayos practicados con el fin de determinar la cantidad de gérmenes atmosféricos no han conducido hasta el presente á resultados absolutamente satisfactorios. El ensayo de von Sehlen, de emplear las soluciones de agar para la absorcion de los microbios, peca ya por el hecho de que en tales substratos puede verificarse una mul-

tiplicacion rápida de saporitos durante el paso naturalmente lento del aire. Además, es difícil retener en el agua de lavado todos los gérmenes, y tambien es difícil cambiar el substrato nutritivo. Parece mejor absorberlos por medio de líquidos indiferentes, lo cual puede hacerse de la manera más completa por medio de la uata, la lana, etc. Los materiales que han servido para filtrar el aire, cargados ya de gérmenes, deben trasportarse á la gelatina nutritiva, y ésta debe echarse en placas, despues de haberla agitado durante media hora, á fin de favorecer la disgregacion de las colonias. Si hay que ensayar diversos substratos nutritivos, es esencial diseminar los materiales filtrados en una solucion de cloruro sódico y añadir una cantidad de ella igual á la de los diferentes substratos. Las estimaciones hechas con arreglo á este método parecen dar buenos resultados; sin embargo, todavía falta una comprobacion suficiente.

b) *Agua*.—Las muestras se toman por medio de frascos esterilizados y con cierre de tapon esmerilado. Pero, como es difícil impedir que éstos se contaminen durante el transporte, se emplean de preferencia ampollitas de cristal vacías de aire y cerradas al soplete, como indica la figura 157.

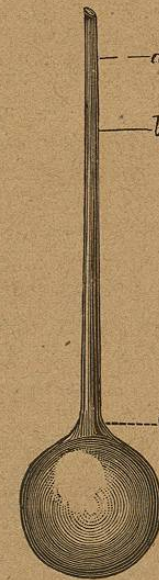


FIGURA 157. — Aparato para la toma de agua.

Tienen como centímetro y medio de diámetro y se prolongan en un tenue tubito casi capilar, de 10 á 15 centímetros de longitud.

Primero se llenan de agua como hasta la mitad, calentándolas y metiendo el extremo del tubo en agua destilada. Entonces se hace evaporar ésta y se recogen las gotitas con papel de filtro, colocado alrededor del tubo. Cuando ya sólo queden algunas gotitas, se cierra el tubo, por el cual aún pasa el vapor, por medio de otro mechero de gas.

Las ampollitas se trasportan en cajas *ad hoc*. Para tomar la muestra se lavan la bola y las manos con sublimado y luego se aspira durante algunos minutos. La primer agua sirve para quitar el sublimado de la bola y de las manos; en seguida, en medio de la corriente de agua se rompe el tubo capilar cerca de la punta *a*; entonces se llena el aparato, el cual se cierra en *b* por medio de una lámpara de espíritu de vino y un soplete. Llevado luego al laboratorio, se desinfecta de nuevo, se lava con agua esterilizada, despues se raya con una lima en *c* y se rompe el tubo. La abertura hecha es lo suficiente ancha para permitir que con una pipeta capilar se tome una ó dos gotas y hasta un centímetro cúbico ó más de líquido.

Exámen. — El estudio del número y de las especies de los gérmenes que existen en el agua se practica mejor por medio de placas de gelatina ó por el método de Esmarch. Para obtener placas utilizables se hacen primero cultivos con una á diez gotas; segun el resultado obtenido, se añade una cantidad mayor de agua ó se diluye con agua esterilizada. Si no es fácil procurarse de nuevo la muestra, se debe hacer de primeras un gran número de placas con cantidades variables.

Mientras posible fuere, toda agua debe examinarse inmediatamente despues de haberse extraído y, en todo caso, en el espacio de una á tres horas. La rápida multiplicación de los gérmenes, en cuanto existe cierto grado de temperatura, hace necesarias estas medidas. Para el transporte es necesario llevar las bolas sumergidas en hielo. Wolffhügel ha visto que por la conservación en éste disminuía algo el número de los gérmenes; pero esta disminución no es tan importante en las primeras veinticuatro á cuarenta y ocho horas, que pueda alterar los resultados. Es preciso, pues, evitar los retardos todo lo que sea posible.

Fol y Dunant han indicado un procedimiento para analizar el agua que se relaciona íntimamente con el método empleado por Miguel para el análisis del aire, pero que presenta los mismos inconvenientes.

c) Tierra. — No se conoce ningun método exacto para el exámen de la tierra. El que parece preferible, segun el autor, es la observación de un pequeño volumen de tierra en un vaso lleno de agua esterilizada. Esta muestra se sacude en el agua durante media ó una hora. Entonces se hacen cultivos en placa, por medio del líquido. Tambien es necesario examinar inmediatamente las muestras, en atención á que

pueden multiplicarse los saprofitos en el laboratorio, por efecto de la elevada temperatura. No se conoce método alguno que permita tomar muestras á diferentes profundidades sin que se produzca una contaminación por los gérmenes de la superficie. En todo caso, es de desear, en interés de la Higiene, que la técnica de los exámenes bacteriológicos del aire, del agua y del suelo se complete y se extienda.

FIN