LA MICROBIOLOGIA

1643

93
218

MICROBIOLOGÍA


GUTEMBERG
SENEFELDER

71

Casa editorial de obras ilustradas, de J. Romá.

TRATADO

DE

MICROBIOLOGÍA

Ó

LOS INFINITAMENTE PEQUEÑOS

POR

TYNDALL, MACÉ, PASTEUR, etc.

TRADUCIDA Y ARREGLADA AL CASTELLANO

POR

D. FRANCISCO NACENTE Y SOLER

ILUSTRADA CON MUCHÍSIMAS FIGURAS CONTENIDAS EN RICAS LÁMINAS LITOGRÁFICAS

DIPUTACION PROVINCIAL BURGOS

BARCELONA

JUAN ROMÁ, EDITOR

Calle del Bruch, núms. 89 y 91

1896

Esta obra es propiedad del Editor, quien se reserva todos los derechos de propiedad literaria y artística de la misma, y perseguirá al amparo de las leyes á todo aquel que la reimprima ó que reproduzca sus láminas fraudulentamente.

T. Susany, impresor; calle de Aragón, 251.—Barcelona.

DIPUTACION PROVINCIAL BURGOS

PRÓLOGO

No es necesario encarecer la importancia é interés del libro que damos hoy al público.

El estudio de los microbios y de los séres infinitamente pequeños, que tanto influyen en los organismos y en todo el reino animal, está hoy á la órden del dia y lo prosiguen con empeño todas las academias y doctas sociedades fisiológicas. Pocas sesiones se celebran sin que bajo una ú otra forma deje de tratarse científicamente de estos séres microscópicos.

El impulso dado, desde unos treinta años á esta parte, por eminentes doctores y especialistas, sobre todo por el ilustre Pasteur, á los trabajos relativos á la microbiologia, va dando sus frutos admirables. Por doquiera surgen nuevos obreros que, á imitacion del gran microbiologista, dan á conocer el resultado de estas investigaciones.

De donde procede que las aplicaciones prácticas de tales estudios son cada vez más numerosas y se vulgarizan dia por dia.

Los estudios hechos sobre el *vino,* el *vinagre,* la *cerveza* y los *gusanos de seda,* publicados por Pasteur, han producido resultados muy fecundos, prestando á la vez inmensos servicios á las industrias agrícolas.

Las aplicaciones de la teoria de los gérmenes, en medicina, conducen al logro de resultados no menos útiles para la humanidad. Antiguamente los cirujanos más expertos vacilaban y hasta retrocedian ante los peligros de la *infeccion purulenta de las llagas,* que seguia casi infaliblemente en pos de las más insignificantes operaciones quirúrgicas.

Por lo contrario, en la actualidad las operaciones más atrevidas se ejecutan con seguridad inaudita, merced al método antiséptico propuesto por el cirujano

inglés Lister y adoptado por los prácticos de todo el mundo civilizado, y que á no dudar seguirá dando aun mayores beneficios en el arte de curar.

Si hemos de ser justos con otros sabios de diferentes paises, cumple decir que Alfonso Guerin, distinguido cirujano de los hospitales de París, habia obtenido excelentes efectos con su método de vendaje acolchado con algodon en rama (uata), que es tambien una aplicacion de las teorias de Pasteur.

La medicina veterinaria se aprovecha á su vez del impulso fecundo dado al estudio de las enfermedades contagiosas. El *virus carbuncloso* ocasionaba cada año numerosas y notables pérdidas á los agricultores y ganaderos. Merced á los trabajos de Pasteur, Toussaint, Ferrán y otros sabios, nos encontramos hoy en la posibilidad de combatir victoriosamente aquélla y otras enfermedades contagiosas por medio de la inoculacion preventiva, y aun tambien por medio de la inoculacion medicatriz.

Todavia no puede vislumbrarse hasta dónde llegarán las aplicaciones higiénicas de la teoria de los gérmenes y del estudio de la embriologia. Por lo tanto, es de suma utilidad que de los trabajos escritos por eminentes sabios que han tomado una parte muy activa en casi todos los experimentos á que nos referimos, se redacte un libro que, vulgarizando esta nueva rama de la ciencia, dé á conocer los magníficos resultados que se han obtenido, ya para satisfacer la curiosidad que sienten todos aquellos que anhelan hacerse cargo de los conocimientos útiles, ya para dar á luz en nuestra lengua un nuevo tratado de higiene relativo á enfermedades terribles y devastadoras.

Tal es el objeto de la presente *Microbiologia*.

Los Editores.

CAPÍTULO PRIMERO

POLVO Y ENFERMEDADES

§ 1

Experimentos sobre las materias en suspension en el aire.



UANDO la luz solar pasa á través de una cámara oscura, revela su invasion iluminando materias ó polvo que está suspendido en el aire. «El sol, dice Daniel Culverwell, descubre átomos, aunque sean invisibles á la luz de una bujia, y los hace danzar desnudos entre sus rayos.»

En las investigaciones hechas por Tyndall sobre la descomposicion de los vapores por medio de la luz, se vió obligado á apartar estos *átomos* y este polvo; pues era indispensable que el espacio comprendido por dichos vapores no contuviese la menor cosa visible, es decir, que ninguna sustancia capaz de turbar la luz, aun del modo más ligero, pudiese al principio de una operacion presentarse en el interior del *tubo experimental.*

Durante mucho tiempo se veia el doctor inglés contrariado por la aparicion de esas materias en suspension, las cuales, aunque invisibles á la luz difusa del dia, eran inmediatamente reveladas por un rayo enérgicamente condensado; y para evitarlo, colocó dos tubos en forma de U y á continuacion uno de otro en el trayecto del aire, antes que éste entrase en el líquido cuyo vapor debia conducirse hasta el interior del tubo experimental. Uno de dichos tubos contenia fragmentos de mármol humedecidos con una enérgica solucion de potasa cáustica; el otro, encerraba pedazos de vidrio empapados de ácido sulfúrico concentrado, el cual sin emitir vapores por sí mismo, absorbia totalmente la humedad del aire. Pero sigamos desde ahora el libro redactado por el mismo Tyndall, guardando para despues otros trabajos sobre esta rama de la ciencia.

Con gran asombro mio ví que el aire del Instituto Real emitido á través de ese aparato con lentitud suficiente para secarlo y privarlo de su ácido carbónico, arrastraba hasta el tubo del experimento una proporcion considerable de materias sostenidas mecánicamente en suspension, y que fueron iluminadas cuando el rayo de sol cruzó dicho tubo. Lo mismo exactamente sucedió cuando

hice pasar el aire á través del ácido líquido y de la potasa en solucion.

Por diversos medios procuré interceptar esas materias en suspension, hasta que por último, el dia 5 de octubre de 1868, antes de dirigir el aire á lo largo del aparato desecador, lo encaminé cuidadosamente por encima de la llama de una lámpara de espíritu de vino. Habiendo sido consumidas las materias en suspension, dejaron naturalmente de ostentarse. De donde deduje que eran *materias orgánicas*. No estaba en modo alguno esperando semejante resultado, pues habia creido siempre hasta entonces, que el polvo de nuestro aire se componia en gran parte de materias minerales ó inorgánicas á la vez que incombustibles (1).

Construí un hornillo de gas, muy empleado actualmente por los químicos, y que contenia un tubo de platino susceptible de calentarse hasta el rojo vivo (2). En el interior del tubo se encontraba un rodillo hueco de la misma sustancia, que dando paso al aire, aseguraba el contacto práctico del polvo con el metal incandescente. Dirigióse el aire del laboratorio al tubo del experimento, unas veces á través del tubo de platino frio, otras veces por el mismo tubo candente. En la primera columna del siguiente cuadro, débil fragmento de una cantidad considerable de los resultados obtenidos, se expresa la proporcion de aire empleado, por la depresion del manómetro de mercurio de la bomba de aire. En la segunda columna se indica el estado del tubo de platino, y en la tercera el del aire dentro del tubo experimental.

CANTIDAD DE AIRE	ESTADOS	
	Del tubo de platino.	Del tubo experimental.
15 pulgadas.. .	Frio.. . .	. Lleno de partículas.
30 » . .	Candente. .	. Ópticamente vacio.

Las palabras *ópticamente vacio* significan que en vista de las condiciones perfectas de combustion, habian desaparecido totalmente las materias en suspenso.

En un rayo cilíndrico que iluminaba vivamente el polvo del laboratorio, coloqué una lámpara de espíritu de vino encendida. Mezclándose con la llama y alrededor de sus bordes se veian curiosos anillos oscuros que se parecian á un humo de color negro intenso. Al poner la lámpara á cierta distancia debajo del rayo de sol, ví aquellas mismas masas oscuras girar entorno de ella. Eran más oscuras que el humo más denso que escapa de la chimenea de un buque de vapor, y por otra parte, su semejanza con el humo era tan perfecta, que movian al observador más experto á deducir que la llama de la lámpara de alcohol, pura en apariencia, exigia simplemente un rayo de sol de suficiente intensidad para revelar dichas nubes de carbono libre.

Sin embargo, ¿eran realmente de humo esos anillos oscuros? Esta cuestion que se suscitó por de pronto, fué resuelta del siguiente modo: Colocóse debajo del rayo de sol un tizon encendido, el cual dió igualmente orígen á torbellinos negruzcos azulados. Una extensa llama de hidrógeno se empleó en seguida, obteniéndose esas mismas masas oscuras alrededor, pero mucho más intensas aún que las del alcohol ó del tizon. Luego quedaba fuera de dudas que no era cuestion de un humo. (1)

¿Qué eran, pues, aquellos torbellinos negros? Simplemente la oscuridad del espacio estelar, es decir, las tinieblas resultantes de

---

(1) Segun el análisis que el doctor Percy tuvo la amabilidad de hacerme, el polvo recogido en *las paredes* del Museo Británico, contenia algo más del 50 por 100 de materias inorgánicas. Tengo toda la confianza en los resultados de este distinguido químico, los cuales demuestran que el polvo flotante de nuestros aposentos, está como tamizado, separado de las materias pesadas. Citaré además el siguiente pasaje de Pasteur, que se refiere directamente á la cuestion: «Pero aquí se ofrece una observacion: el polvo que se encuentra en la superficie de todos los cuerpos, está sometido constantemente á corrientes de aire que levantan las partículas más ligeras, entre las cuales se encuentran con preferencia sin duda los corpúsculos orgánicos, huevos ó esporos, menos pesados generalmente que las partículas minerales».

(2) Creo que fué Pasteur el primero que empleó semejante tubo.

(1) En ninguna sala pública de los Estados Unidos, donde he tenido el honor de dar conferencias, tuvieron buen éxito estos experimentos. El polvo orgánico era muy raro. En cambio ciertas salas de Inglaterra, como por ejemplo el Brigthon Pavilion, carecen igualmente de las condiciones necesarias.

no encontrar el rayo de sol ninguna materia susceptible de dispersar su luz. La llama estaba colocada debajo de él, las materias en suspension se encontraban destruidas *in situ;* y privado el aire de tales materias se elevaba por su interior, descartando las partículas iluminadas y sustituyendo á su luz las tinieblas de su propia y perfecta transparencia. Nada podia ilustrar mejor la invisibilidad del agente que hace visibles todas las cosas. El rayo de sol, no perceptible, cruzaba los *vacios* oscuros formados por el aire transparente, mientras que por ambos lados de la brecha, las partículas apretadas brillaban como un sólido resplandeciente bajo la poderosa iluminacion.

No es, empero, necesario quemar esas partículas para producir torbellinos negros ú oscuros. Pueden, sin haber combustion, engendrarse corrientes que desalojan las materias en suspension, y entonces aparecen partes oscuras en medio de la claridad circundante. Comprobé este fenómeno colocando primero una bola de cobre, calentada hasta el color rojo, bajo el rayo de sol y manteniéndola allí hasta que su temperatura hubiese bajado más allá de la temperatura del agua hirviendo. Los anillos oscuros fueron mucho más débiles, pero no cesaron de manifestarse. Pudieron igualmente ser producidos por una botella de agua caliente.

Para estudiar con mayor atencion el fenómeno, tendí transversalmente por debajo del rayo de sol un hilo de platino. Los extremos de este alambre estaban en conexion con los polos de una bateria voltáica, y para regularizar la fuerza de la corriente, se colocó en el circuito un reostato. Se principió por calentar el hilo con una débil corriente, y luego por grados se fué aumentando su temperatura; pero mucho antes de que el calor llegase al grado de ignicion, levantóse un ligero viento que se veia mirando á lo largo de los bordes y parecia más oscuro y marcado que una de las líneas más oscuras de Fraunhofer en el espectro purificado. Á derecha é izquierda de esta zona vertical elevábanse las materias en suspension, limitando determinadamente la corriente de aire no luminoso.

¿Qué explicacion podia darse á tal fenómeno? Sencillamente la de que el hilo caliente rarifica el aire que está en contacto con él, si bien no alumbra por igual las materias que hay en suspension.

Por lo tanto, la corriente de aire puro pasa por encima entre las partículas inertes, separándolas á derecha é izquierda y formando entre las mismas un espacio negro infranqueable. Ese experimento permite darse cuenta de las corrientes oscuras que producen ciertos cuerpos á una temperatura inferior á la de la combustion.

Si calentamos vivamente el alambre de platino, las materias en suspenso se ven no sólo desalojadas, sino que tambien destruidas. Tendí un alambre de unas cuatro pulgadas de largo á través del aire de una campana ordinaria de cristal, descansando en una uata que se alzaba un poco más arriba del borde. Elevado el alambre al calor blanco por medio de una corriente eléctrica, dilatábase el aire y cierta parte de ella debia forzosamente atravesar la uata. Cuando se detenia la corriente, enfriábase el aire interior de la campana y se efectuaba una entrada de aire exterior. No obstante, esa entrada no producia el reingreso de las partículas, por desempeñar en tal caso el algodon en rama (uata), el papel de un filtro. Al principio de este experimento la campana estaba llena de materias en suspension, y al final, al cabo de media hora, se veia ópticamente vacía.

Claváronse á la base de madera de un vaso prismático de cristal, que mediria el volúmen de un pié cúbico, dos soportes verticales, y del uno al otro se tendieron treinta y ocho pulgadas de platino en cuatro líneas paralelas. Soldáronse los extremos de este alambre con dos fuertes conductores de cobre, que cruzaban la base de la campana y podian ponerse en conexion por medio de una bateria. Lo mismo que en el anterior experimento descansaba la campana en un pedazo de uata. Un rayo de sol dirigido á través de la campana reveló las materias que estaban en suspension. Luego se puso candente el alambre hasta el color blanco, y en el curso de cinco minutos hubo una sensible disminucion de partículas, las cuales, en el espacio de diez minutos, quedaron totalmente consumidas.

El oxígeno, el hidrógeno, el ázoe y el ácido carbónico, preparados de manera que excluyan dichos *átomos,* producen, cuando se les proyecta ó insufla en un rayo de sol, las tinieblas del espacio estelar. Lo mismo acontece con el gas de alumbrado. Una campana ordinaria de cristal colocada en el aire con la abertura hácia abajo, deja ver la via del rayo de sol al atravesarla. Cuando se hace entrar gas de alumbrado ó hidrógeno por un tubo que se eleva hasta lo alto, el gas la llena gradualmente de arriba abajo; y tan pronto como ocupa el espacio cruzado por el rayo de sol, queda suprimida la via luminosa. Levantando la campana de manera que el límite comun del gas y del aire suba más arriba del rayo de sol, vuelve á brillar dicha via; y si despues de llenarse la campana se la invierte, el gas puro se escapa hácia arriba semejando negro humo por entre las partículas iluminadas.

§ 2

La teoria de los gérmenes en las enfermedades contagiosas.

Constantemente nos hallamos en contacto con las materias en suspension en el aire, y no solamente sufrimos la irritacion mecánica que producen, sino que tambien, segun la creencia que cada dia se confirma más, una parte de ellas es la base de toda una série de desórdenes que en su mayoria son mortales para el hombre. ¿Y cuál es esta parte? Antiguamente se creia que las enfermedades epidémicas se propagaban por una especie de malaria, consistente en las materias orgánicas móviles en estado de descomposicion; que cuando tales materias se habian internado en el cuerpo á través de los pulmones, la piel ó el estómago, tenian el poder de desarrollar en el organismo el mismo proceso de destruccion que las habia atacado. Alegábase, además, para sostener esa opinion, que lo mismo sucedia visiblemente en el fenómeno de la levadura. ¿No veian, por ejemplo, que un pedacito de esta sustancia bastaba para elevar una pesada y enorme masa? ¿Porqué un poco de malaria pútrida no habia de obrar de un modo semejante en el interior del cuerpo humano? Un simple grano de polvo, en este supuesto estado de descomposicion, debia poder, aparentemente, propagar de una manera indefinida su propia corrupcion. En 1836 se dió una respuesta de todo punto inesperada á esta importante cuestion. Cagniard de Latour descubrió la planta de la levadura, organismo viviente que cuando se halla colocado en un ambiente á propósito, se nutre y crece, se reproduce y da así nacimiento al fenómeno que denominamos fermentacion. Luego, no se trata aquí de una corrupcion móvil, sino de una vida activa. Con tal descubrimiento la fermentacion debió considerarse como un efecto de la vida orgánica.

El berlinés Schwann observaba al mismo tiempo y sin saber nada del otro, la planta de la levadura, y además conseguia en febrero de 1837 el resultado importante de que al tenerse una decoccion de carne cuidadosamente garantida de la accion del aire ordinario y solamente puesta en contacto con aire quemado, nunca entraba en putrefaccion. Afirmó, de consiguiente, que la putrefaccion no era originada por el aire, sino por alguna cosa que habia en el aire y que podia destruirse con una temperatura debidamente elevada. Los resultados de Schwann fueron confirmados por los experimentos independientes de Helmholtz, Ure y Pasteur, al paso que otros métodos aplicados por Schulz, Schræder y Dush tuvieron el mismo éxito. Sin embargo, en lo que á la fermentacion concierne, el ánimo de los químicos, influido probablemente por la gran autoridad de Gay-Lussac, retrocedió hácia la nocion antigua de las materias en el estado de corrupcion. No era aquello, decian, la planta viva de la levadura, sino esa misma planta, ó mejor, algunas de sus partes, muertas, las que

atacadas por el oxígeno producian la fermentacion. Y sin embargo, hoy está fuera de dudas que cuando la planta ha muerto, cesa la fermentacion.

De consiguiente, inmediatos ó mediatos, los *fermentos* son organismos vivientes que encuentran en las sustancias fermentables su alimentacion necesaria.

Paralelamente á estas investigaciones y descubrimientos y fortalecida por aquéllas y por éstos la *teoria de los gérmenes* sobre las enfermedades epidémicas, iba desarrollándose. La nocion de que tales enfermedades pueden atribuirse á gérmenes suspendidos en la atmósfera; que pueden entrar en el cuerpo produciendo allí desórdenes á causa del desarrollo de la vida parasítica, se debe á Kircher, apoyado con la autoridad de Linneo. La fuerza de esta teoria consiste en la perfecta concordancia que hay entre los fenómenos de las enfermedades contagiosas y los de la vida. Así como una bellota plantada da nacimiento á una encina capaz de producir una cosecha abundante de bellotas, cada una á su vez está dotada de reproducir un árbol semejante; y del mismo modo que de una sola semilla puede formarse un bosque entero, las enfermedades epidémicas implantarian literalmente su gérmen creciendo y esparciendo hácia el exterior nuevos gérmenes que, encontrando en el cuerpo humano la temperatura y el alimento convenientes, invadirian al fin y al cabo poblaciones enteras. Nada hay, que sepamos, en la química pura que tenga la facultad de propagarse de una manera tan grande como la materia que es orígen de dicha clase de enfermedades. Si sembramos trigo, no cosecharemos cebada; y así implantando las viruelas no se obtendrá la fiebre escarlatina, sino las viruelas indefinidamente y nada más. La materia de cada enfermedad contagiosa se produce tan regularmente, como si fuese cualquier animal de organismo perfecto.

§ 3

Enfermedades parasitarias de los gusanos de seda.—Trabajos de Pasteur.

Todo el mundo está en la actualidad conforme con que ciertas enfermedades son el producto de la vida parasitaria. Su existencia se ha demostrado á la vez en el hombre y en los animales inferiores. Me propongo hablar aquí de una epidemia de esta índole, cuidadosamente estudiada y combatida con éxito por Pasteur. Durante quince años se habia desarrollado en Francia una plaga contra los gusanos de seda. Languidecian y morian á centenares y á miles, al paso que los que llegaban á hilar sus capullos, daban solamente una fraccion de la cantidad de seda que de ellos podia esperarse. En 1853 la industria de este textil, habia dado un contingente de 130.000,000 de francos. Comparado con el de los veinte años anteriores, este producto habia duplicado, y nadie dudaba de su aumento futuro. El peso de los capullos producidos, ascendió en 1853 á la suma de 20 millones y medio de kilos; y en 1865 bajó á menos de 3 millones de kilos, acarreando esta baja una pérdida de más de 100 millones de francos en un año.

Ahora bien, ocurria que la region principalmente azotada por la calamidad, era la patria del célebre químico Dumas, quien se dirigió á su amigo, colega y discípulo, Pasteur, rogándole con un encarecimiento que las circunstancias hacian casi personal, que emprendiese el estudio de tal enfermedad. Por aquella época Pasteur no habia visto aún ningun gusano de seda, y en respuesta á su amigo, invocaba su inexperiencia. Pero conociendo muy bien Dumas las cualidades necesarias en semejantes investigaciones para aceptar aquellas excusas, contestó: «Tengo vivo empeño en ver que consagrais vuestra atencion á un asunto que interesa á mi pobre país, cuya miseria hoy sobrepuja á toda pon-

deracion». Una infinidad de memorias sobre la epidemia, cuya monotonia era interrumpida á raros intérvalos por una publicacion más ó menos útil, habian sido desparramadas entre el público.

«La farmacopea del gusano de seda, escribia Cornalia en 1860, es actualmente tan complicada como la del hombre. Los gases, líquidos y sólidos, han sido puestos á contribucion; y el cloro con ácido sulfúrico, el ácido nítrico con ron, el azúcar con sulfato de quinina, han sido empleados en busca del alivio de ese infortunado insecto.» Además, los cultivadores del gusano de seda acogian con la mayor ansiedad todo nuevo remedio, con tal que se les apremiase con alguna osadia, pareciendo imposible que no disminuyese su confianza en los ciegos que se les ofrecian como guias. En 1863 el ministro de agricultura y comercio consintió en adelantar una suma de 500 mil francos para el ensayo de un remedio que su inventor declaraba infalible. Aplicóse este remedio en doce departamentos, y en ninguno dió el menor resultado útil. En tales circunstancias, cediendo Pasteur á la insistencia de su amigo, se dirigió á Alais, á primeros de junio de 1865. Respecto á la cria de gusanos de seda, era el departamento más importante de Francia, á la vez que el más castigado por el azote.

El gusano de seda habia sido atacado anteriormente por otra enfermedad denominada *moscardina,* que Bassi demostró ser causada por un parásito vegetal, cuyos esporos, arrastrados por el viento, esparcian á menudo la epidemia en comarcas muy distantes del centro de infeccion. Se dice que la moscardina es actualmente muy rara, pero una enfermedad más perniciosa ha venido á sustituirla y la caracterizan unas manchas negras que salpican el gusano de seda: de donde proviene el nombre de *pebrina* que al principio aplicó al azote Quatrefages, y que Pasteur adoptó. La pebrina se manifiesta por un crecimiento desigual y mustio de los gusanos, por la languidez de sus movimientos, por su indiferencia á tomar alimentos y por su muerte prematura.

La historia de los descubrimientos relativos á esa epidemia puede resumirse de esta manera. En 1849 Guerin-Meneville observó en la sangre de los gusanos de seda corpúsculos vibrátiles á los cuales atribuyó, en vista de sus movimientos, una vida independiente. No obstante, Filippi demostró que tales movimientos no eran otra cosa que el muy conocido movimiento browniano; pero cometió el error de suponer que los corpúsculos eran apariciones normales en la vida del insecto. Teniendo la facultad de multiplicarse indefinidamente, son sin duda alguna la causa de la muerte del gusano, la forma y la sustancia de su enfermedad. Cornalia describió muy bien todo eso, en tanto que Lebert y Frey encontraban poco tiempo despues tales corpúsculos no solamente en la sangre, sino tambien en los tejidos del insecto. En 1857 los descubrió Osimo en los huevos, y en esta observacion fundó Vittadiani el año 1859 un método práctico para distinguir los huevos sanos de los huevos enfermos. Con todo, sometido este procedimiento á la práctica se ofreció muchas veces poco concluyente y nunca pudo aplicarse en grande escala.

Los corpúsculos vivos de que acabamos de hablar, se apoderan ante todo del tubo digestivo y desde allí se desparraman por todo el cuerpo del insecto. Llenan igualmente el aparato productor de la seda, y el gusano enfermo ejecuta á veces automáticamente los movimientos de hilar sin tener materiales para su trabajo. En vez de llenarse dicho aparato con un líquido claro y viscoso, como en los animales sanos, está invadido por aquellos corpúsculos; y en este período de la enfermedad fijó Pasteur toda su atencion. El ciclo de la vida del gusano de seda puede resumirse en los siguientes términos: Del huevo fecundado resulta una larva que crece y sufre una primera muda. Esa muda se repite dos ó tres veces á intérvalos durante la vida del insecto. Despues de la última muda, éste se encarama por las ramas colocadas al efecto, y allí hila su capullo. Entonces se transforma en crisálida; la crisálida se vuelve gusano, y cuando éste queda enteramente libre, pone los huevos que han de ser el punto de partida de una nueva generacion.

Ahora bien, Pasteur demostró que los corpúsculos parásitos podian nacer en el huevo

en vias de desarrollo y escapar por tanto á la observacion, probando igualmente que podian existir en gérmen en el gusano y desafiar tambien entonces el microscopio. Pero á medida que el gusano crece, crecen con él los corpúsculos, haciéndose mayores y quedando más definidos. En las crisálidas viejas son más pronunciados que en los animales jóvenes, mientras que en la larva, tanto si el huevo ó el gusano de que proviene aquella han sido atacados, aparecen claramente sin ofrecer la menor dificultad de observacion. Este fué el primer punto importante que Pasteur puso en evidencia el año 1865. Los naturalistas italianos recomendaban el exámen de los huevos antes de someterlos á la incubacion. Pasteur demostró que lo mismo podian ser atacados los huevos que los gusanos, y á pesar de todo escapan á la comprobacion y exámen, debiendo el desarrollo de tales huevos ó gusanos acarrear indefectiblemente desastrosos resultados. Tomó por punto de partida la larva, proponiéndose regenerar la raza.

El célebre microbiologista dirigió su primera comunicacion á la Academia de Ciencias de París en setiembre de 1865, provocando las críticas más amargas. No se veia en verdad más que á un químico que dejaba temerariamente su propio *oficio* y se proponia hacer la ley á los médicos y á los biologistas sobre una cuestion que les incumbia esencialmente. «Encontrábase extraño, dice, que estuviese yo tan poco al corriente de la cuestion; opusiéronme trabajos que habian aparecido en Italia, cuyos resultados demostraban la inutilidad de mis esfuerzos y la imposibilidad de llegar á un fin práctico, siguiendo la senda que me tracé; y por último, que mi ignorancia era muy grande respecto de las investigaciones innumerables que desde quince años habian aparecido.»

Con todo, Pasteur dejó pasar la tempestad y prosiguió sus trabajos. En el momento de escoger los huevos destinados á la incubacion, los cosecheros de seda elegian los huevos procedentes de crias que hubiesen salido buenas en el curso del año. Pero no podian comprender los frecuentes y á veces desastrosos fracasos producidos por tales huevos; no sabian, y nadie antes de Pasteur era competente para advertírselo, que los más hermosos capullos pueden envolver crisálidas corpusculosas y por ende enfermas. Para subyugar su imaginacion y á la vez hacerles modificar sus procedimientos, Pasteur imaginó un expediente de profecía. Examinó el año 1866 en Saint-Hippolyte-du-Fort, catorce montones de huevos escogidos para la incubacion, y despues de observar suficiente número de las larvas que habian producido dichos huevos, escribió la prediccion que debia verse realizada en 1867, y la puso bajo pliego cerrado en manos del alcalde primero de Saint-Hippolyte.

En el año siguiente los cosecheros de seda comunicaron sus resultados al mencionado alcalde. Abrióse entonces la carta de Pasteur, y al leerla se vió comprobado que de catorce casos, en los doce habia la mayor concordancia entre sus predicciones y los hechos observados. Muchos grupos de gusanos habian perecido en totalidad y los otros casi totalmente, conforme pronosticara Pasteur. Únicamente en dos casos se cosechó la mitad del producto, en vez de la destruccion anunciada. Para completar nuestro pensamiento cumple añadir que los montones de huevos de que se trata aquí, eran considerados como sanos por sus propietarios. Dichos huevos se habian sometido á la incubacion y se habia tenido el mayor cuidado en la cria, con la firme esperanza de que el trabajo empleado tendria la recompensa. La aplicacion del nuevo procedimiento en 1866 habria bastado para evitar en pocos minutos muchas penas inútiles y ahorrar amargas decepciones. Dos grupos adicionales de huevos fueron al propio tiempo sometidos á Pasteur, quien los declaró sanos; y su opinion fué comprobada por la produccion de una cosecha más que regular. Otras profecias análogas, y algunas todavia más notables, porque están más circunstanciadas, se leen en la obra de Pasteur *Estudios sobre las enfermedades de los gusanos de seda*.

Pasteur sometió la cria ó desarrollo de los corpúsculos á una investigacion penetrante y prosiguió con admirable habilidad el exámen de los modos diversos con que se propagaba la infeccion. De larvas perfectamente libres

de corpúsculos, obtuvo gusanos sanos, y escogiendo 10, 20, 30, 40, 50, segun los casos, introdujo en aquellos la materia corpusculosa que les hizo sólo al principio absorber con el alimento.

Ahora bien, podemos escoger un ejemplo cualquiera entre los numerosos experimentos que llevó á cabo. Aplastando un gusanito corpusculoso en el agua; extendia esta especie de pasta en hojas de moral, y asegurándose luego de que las hojas habian sido comidas por los gusanos, aguardaba las consecuencias de su operacion.

A la par de los gusanos infectos cuidaba de la cria de otros que en lo posible habia resguardado de la enfermedad. Estos últimos constituian su *testimonio,* su punto de comparacion. Así envenenó treinta gusanos el 16 de abril de 1868, y hasta el 23 no parecieron atacados del mal. El 25 parecia que aun estaban buenos, pero aquel dia se encontraron corpúsculos en el intestino de dos gusanos. El dia 27 ó sea once despues de haber absorbido el alimento infecto, dos nuevos gusanos fueron sometidos al exámen, y no solamente en ambos casos se encontró invadido el canal intestinal, sino que además el aparato de la seda estaba cuajado de corpúsculos. El 28 se cubrian los restantes gusanos con manchas negras, siendo en el dia 30 muy notable la diferencia de tamaño entre los gusanos enfermos y los que formaban el grupo de prueba ó *testimonio,* pues los primeros no llegaban á formar los dos tercios del volúmen de los segundos. El dia 2 de mayo se examinó un gusano que acababa de terminar su cuarta muda. Estaba tan lleno todo su cuerpo de parásitos, que difícilmente se comprendia cómo podia vivir tan enfermo. Entre tanto el mal avanzaba, los gusanos morian, y el 11 de mayo solamente de los 30 sobrevivian 6. Eran sin duda los más fuertes del grupo; pero al examinarlos se les encontró igualmente infestados de corpúsculos. Ni uno siquiera de los gusanos envenenados escapó á la enfermedad; una simple comida los habia atacado mortalmente á todos. Los del grupo *testimonio,* en cambio, hilaron hermosos capullos, habiéndose encontrado solamente en dos algunas huellas del parásito que sin duda se habian deslizado durante la cria, como quiera que estaban inmediatamente al lado de los gusanos enfermos.

Cada dia Pasteur se sentia más dueño de su teoria, y el deseo de introducir mayor precision en sus investigaciones, fué aumentando en él hasta llegar el punto de poder contar dia por dia el número de corpúsculos visibles en el campo del microscopio. Entonces inoculó gusanos, exentos de parásitos, con materia corpusculosa, y aguardó el desarrollo subsiguiente de la enfermedad. Demostró que los gusanos se envenenaban entre sí por medio de las heridas visibles que se hacian con sus garras. Además, despues de lavar varias veces los órganos heridos, encontró corpúsculos en el agua, demostrando con ello que la propagacion de la enfermedad se efectuaba con la mera asociacion de gusanos enfermos y buenos. Con sus garras ó sus excrementos, los animales atacados difundian la infeccion. Luego, no era el medio ambiente corrompido el que mataba los gusanos, sino un organismo determinado. Tambien se demostró despues de profundo exámen la cuestion de la infeccion á ciertas distancias.

«Colocad, dice hablando de uno de estos experimentos, al cosechero más cuidadoso, y aun al micrógrafo más experto enfrente de las grandes crias que ofrecen los síntomas descritos en nuestros experimentos; su dictámen seria forzosamente erróneo, si se limitase á los conocimientos que precedian á mis investigaciones. Los gusanos no le presentarian la más leve mancha de pebrina; el microscopio no le revelaria la existencia de corpúsculos; la mortalidad seria nula ó insignificante y los capullos no dejarian nada que desear. Nuestro observador acabaria, pues, por no dudar que los huevos producidos fuesen buenos para la incubacion. Pero la verdad seria que todos los gusanos de tan hermosa cosecha estarian envenenados; que desde el principio llevarian en sí el gérmen de la enfermedad próximo á multiplicarse desmesuradamente en las crisálidas y larvas, y á pasar despues á los huevos, atacando de esterilidad la próxima generacion. ¿Y cuál seria la causa primordial de la enfermedad oculta bajo tan halagüeño aspecto? En nuestros ex-

perimentos podemos, por decirlo así, señalarla con el dedo: seria simplemente el efecto de un pasto corpusculoso, efecto más ó menos rápido, segun la época de la vida del gusano que tomara su alimento envenenado.»

A renglon seguido describe detalladamente Pasteur los medios que deben emplearse para proporcionarse huevos sanos. Trata nada menos que de efectuar una especie de restauracion en el arte de criar la seda. La justificacion de su obra se encuentra en las felicitaciones que recibió por la aplicacion de su método, ya cuando la estaba imprimiendo. En Francia é Italia, donde se adoptó en seguida y se sigue dicho método, da los resultados más satisfactorios, si bien no se obtiene esa victoria hasta despues de penosa lucha. «Desde el principio de tales investigaciones, dice, me he visto continuamente expuesto á las contradicciones más obstinadas y menos justificadas; pero me he impuesto el deber de no dejar en mi libro la menor huella de tales conflictos.» Con respecto á las enfermedades parasitarias en general, se expresa en estos términos, que dan en qué pensar: «En poder del hombre está hacer desaparecer las enfermedades parasitarias, si como opino convencidamente, es una quimera la doctrina de las generaciones espontáneas.»

Finalmente, Pasteur, insiste en el caso de una isla como Córcega que habria podido aislarse completamente de la epidemia del gusano de seda. Y por lo tocante á otras epidemias, John Simon describe un caso extraordinario de exencion insular relativa á los diez años que van de 1851 á 1860. De los 627 distritos observados en Inglaterra, uno solo habia escapado libremente á las enfermedades que predominaban en los otros total ó parcialmente. Durante esos diez años ni una sola muerte por sarampion habia ocurrido como ni tampoco por viruelas ni fiebre escarlatina. ¿Y por qué? Seguramente no por causa del mérito sanitario general del distrito en cuestion, puesto que tenia una proporcion media de otras condiciones anti-higiénicas. La verdadera razon estaba sin duda en su naturaleza insular. Hablamos de las islas Scilly, á las cuales era poco probable que atacase un contagio febril cualquiera. Esta preservacion es en cierto modo una prueba de que durante dichos diez años ningun caso de viruelas, sarampion ó escarlatina se habia declarado especialmente en sus límites; pudiendo añadirse, además, que tales islas formaban parte de los siete distritos de Inglaterra en que no se habia consignado una sola muerte por difteria durante el mismo tiempo.

Otra enfermedad parasitaria de los gusanos de seda, la *falladura*, coexistia con la pebrina de la que, sin embargo, era muy distinta, y fué tambien estudiada por Pasteur. Hemos insistido ya demasiado sobre esa cuestion, y remitimos á los que interese particularmente, á la obra original de Pasteur para mayores informes. Con todo, llamaremos la atencion sobre un punto práctico importante, respecto del cual Pasteur nos escribia en estos términos:

«Permitidme terminar estas pocas líneas que dicto rendido por la enfermedad, haciéndoos observar que prestariais un gran servicio á las colonias de la Gran Bretaña difundiendo el conocimiento de este libro y de los principios que siento relativos á la enfermedad de los gusanos de seda. Muchas de esas colonias podrian cultivar el moral con buen éxito, y echando una ojeada por mi libro os convencereis fácilmente de cuán sencillo es hoy, no solamente alejar la enfermedad reinante, sino tambien dar á las cosechas de la seda una prosperidad que nunca han tenido.

§ 4

Origen y propagacion de la materia contagiosa.

Antes de Pasteur, corrian las opiniones más diversas y contradictorias acerca del carácter contagioso de la pebrina; unos estaban por la afirmativa y otros por la negativa más rotunda; pero todos estaban de acuerdo en un punto. Creian todos los que se ocupaban de

la cuestion, en la influencia de un medio deletéreo que un influjo misterioso y oculto hacia epidémico y producia la enfermedad. Los que están al corriente de la literatura medical inglesa, habrán observado cierta analogia muy instructiva; pues por una parte cuenta con escritores muy doctos que atribuyen las enfermedades epidémicas á los *medios ambientes deletéreos* que toman espontáneamente orígen en los hospitales demasiado llenos y producen un olor desagradable. Segun ellos, la materia contagiosa de estas enfermedades se forma *originariamente* en una atmósfera putrificada. Por otra parte hay sabios ingleses que tienen ideas muy definidas y siguen con método sus investigaciones, los cuales sostienen que las materias contagiosas traen siempre su orígen de un tronco semejante preexistente; que estas materias proceden como sustancias germinativas, y no vacilan en mirarlas como tales, no creyendo tampoco en la generacion espontánea de las enfermedades en cuestion.

Pasteur encontró que la pebrina era conocida desde muchísimo tiempo como enfermedad de los gusanos de seda; y el desarrollo de ella, que combatió, fué simplemente la expansion de una cosa que ya existia, es decir, la explosion de un fuego escondido desde mucho tiempo bajo las cenizas. Y nada hay en ello de asombroso; pues aunque las enfermedades epidémicas requieren un contagio especial que las produzca, las condiciones circunstantes deben tener una influencia poderosísima en su desarrollo. Pueden sembrarse debidamente buenas semillas que, sin embargo, por las condiciones de temperatura y de humedad, puedan restringir y hasta aniquilar todo crecimiento subsiguiente.

Por lo tanto, considerado desde el punto de vista de la teoria de los gérmenes, la energia excepcional que exhiben de una manera intermitente las enfermedades epidémicas, está en armonia completa con los procedimientos ordinarios de la naturaleza. De vez en cuando oimos hablar de la difteria como si fuese una enfermedad nueva; y, sin embargo, John Simon afirma que hace unos tres siglos, atacaron á España espantosas epidemias de esta enfermedad conocida desde entonces con el nombre de *garrotillo*, y poco despues invadió toda la Italia. Además, desde entonces, han observado la misma enfermedad todas las generaciones sucesivas de médicos. Así, por ejemplo, el Dr. Starr, por los años 1758 la describió en una comunicacion dirigida á la Sociedad Real, con todos los síntomas que hoy observamos: la designó con el nombre de *morbus strangularius,* y la señala como particularmente diseminada en Cornualles. Y este fenómeno es sobremanera interesante porque en sus reapariciones modernas la difteria parece tener una especie de predileccion por esta distante comarca. Muchos creen igualmente que la peste negra que afligió á Europa cinco siglos atrás, desapareció tan misteriosamente como vino; pero el doctor Simon supone que tiene mucha relacion dicha peste con el azote que diez años atrás empezó á predominar en las comarcas del Noroeste de la India.

Permítasenos indicar aquí un caso que tuvimos ocasion de observar personalmente. Encontrándome en los Alpes el año 1869 en compañia de un compatriota, recibió éste varias cartas de su familia, en las que se le anunciaba que habia estallado entre sus hijos la fiebre escarlatina. Si mal no recuerdo, vivian en Dartmoor, en una eminencia situada en excelentes condiciones higiénicas; y era difícil imaginar cómo habia podido ser transportada á tal paraje la fiebre escarlatina. Ahora bien, precisamente se dirigia á su casa una cloaca, y en ella recayeron inmediatamente las sospechas de mi compañero. Varios médicos le confirmaron en esta opinion, desviándole así del punto verdadero; al paso que otros, de una escuela más docta, en mi sentir, negaban á una cloaca, á pesar de estar sucia, el poder de engendrar *originariamente* una enfermedad específica; y estos últimos tuvieron razon, puesto que despues de una investigacion séria y detenida, mi compatriota descubrió que su hijo habia jugado con un caballo de madera que perteneciera á un niño que pocos dias antes habia sido atacado de fiebre escarlatina.

No siempre el hedor que exhalan las cloacas y otros focos de inmundicia es la causa de las enfermedades que se le atribuyen. De

vez en cuando se ofrece en Lóndres el caso de un Támesis fétido y una leve proporcion de defunciones; y se comprende, porque si la materia especial ó el gérmen de los desórdenes epidémicos no preexistiese, la atmósfera corrompida, nociva sin embargo por otros conceptos, no podria producir la enfermedad. Pero si los gérmenes están presentes, las cloacas defectuosas y sitios análogos se convierten entonces en poderosos distribuidores del azote y de la muerte. Por otra parte, con el transporte de su gérmen especial ó virus, la epidemia puede desarrollarse en regiones cuyo suelo esté en condiciones para ello, á pesar de la pureza de la atmósfera.

Si veis un cardo que crece en vuestro campo, tendreis la seguridad de que su semilla ha sido llevada hasta allí por el viento. Así tambien parece seguro que la materia contagiosa de las enfermedades epidémicas ha sido sembrada en el paraje en que aparece. Con una claridad y precision que no podria sobrepujarse, el doctor W. Budd estudió estas enfermedades de sitio en sitio, demostrando cómo se implantan en puntos distintos entre poblaciones sometidas á las mismas condiciones atmosféricas, absolutamente lo mismo que se siembran granos de trigo en donde se quiere. Hildebrand, sobre el cual llamó mi atencion la notable obra del doctor Mussy *El Tifus contagioso*, cita el siguiente caso como ejemplo elocuente á la vez del transporte y de la preexistencia del virus de la escarlatina. «Una levita negra que llevaba al visitar á un enfermo atacado de escarlatina, y que me traje de Viena á Podolia, sin habérmela puesto en año y medio, me comunicó así que llegué, esta enfermedad contagiosa, que diseminé en seguida en esa provincia, á pesar de que hasta entonces era allí desconocida.»

Hace algunos años que el doctor Mussy mismo fué llamado á una casa de campo de Surrey para prestar sus auxilios á una dama que sufria de una hidropesia sobrevenida á consecuencia de la fiebre escarlatina. Siendo de carácter muy benigno la enfermedad primitiva, se la descuidó enteramente; pero los informes recogidos por el doctor no le dejaron la menor duda sobre la causa de la hidropesia. La cuestion se planteaba en los siguientes términos: ¿Cómo habia cogido la escarlatina aquella dama? Dos meses antes habia ido á una visita y hasta un mes despues de residir en la fonda no habia caido enferma. El fondista aclaró por fin el misterio. La dama habia manifestado el deseo de ocupar un cuarto en una torre aislada, y su deseo habia sido satisfecho. Ahora bien, en este cuarto habia estado enfermo de escarlatina seis meses antes un forastero. Se habia barrido y enjalbegado el cuarto, pero las alfombras y tapices se dejaron en él.

Sin duda podrian citarse mil casos semejantes en los cuales la enfermedad se declara de una manera misteriosa, si bien un profundo exámen revela siempre su verdadero parentesco y orígen.

¿Es lógico, pues, buscar en el concurso fortuito de átomos la causa de las enfermedades epidémicas, porque en ciertos casos no se puede seguir su filiacion? Los que están más familiarizados con la naturaleza de los átomos y más dispuestos á admitir la omnipotencia de la materia, serian seguramente los últimos en adoptar estas hipótesis absurdas ó atrevidas.

§ 5

La teoria de los gérmenes aplicada á la cirugia.

Las ciencias médicas y particularmente la cirugía, buscan hoy la luz y su guia en la teoria de los gérmenes. En ella sobre todo está fundado el sistema antiséptico del doctor Lister, de Edimburgo. Como hemos dicho, esa teoria encontró su base en los trabajos de Schwann; pero las aplicaciones que de ella dedujo Lister son de un interés tan general,

que nos es imposible dejar de consagrarles algunas palabras.

«Las observaciones Schwann, dice el profesor de Edimburgo, no tuvieron la atencion que á mi parecer merecian. Verdad es que se admitió que la fermentacion del azúcar era producida por la *torula cervisiæ*; pero no se quiso convenir en que la putrefaccion pueda ser debida á un agente análogo. Y sin embargo, las dos cosas presentan el más completo paralelismo, pues en cada uno sufren transformaciones notables un compuesto estable, el azúcar por una parte y la albumina por otra, bajo la influencia de una cantidad excesivamente corta de una sustancia que desde el punto de vista químico supondriamos ineficaz.»

Permítase recordar, tocante al asunto, una circunstancia que se ofrece á menudo en el tratamiento de los grandes abcesos crónicos. Con el fin de garantir tales abcesos del contacto del aire atmosférico, tenemos la costumbre de extraer el pus por medio de una cánula y de un trócar, cuyo cuerpo ó tubo es susceptible de proyectarse al exterior. Untado con aceite el instrumento se mete en la cavidad del abceso y al retirarse el trócar sale el pus por la cánula. Tómanse por supuesto precauciones especiales, pues se hace una ligera presion con la mano en la parte enferma para evitar toda regurgitacion. Se quita entonces la cánula con cuidado procurando evitar la entrada del aire. Este método se ve á menudo coronado por el mejor exito, relativamente á su objeto inmediato, que es el de librar al paciente de la masa de fluido acumulado, y además puede emplearse sin el menor inconveniente. Pero algunas veces, aunque pocas, el pus se reune nuevamente y hace necesario repetir la operacion. Desgraciadamente, no hay entonces absoluta seguridad contra las consecuencias que pueden resultar. Así sucede á veces que la puncion parece sana á primera vista y no obstante se declaran síntomas febriles durante el curso del primero ó del segundo dia. Inspeccionado el sitio del abceso se nota entonces que la piel es rubicunda, indicando de ese modo la presencia de alguna causa de irritacion, al paso que se efectúa en el interior una nueva y rápida acumulacion del fluido. En tales circunstancias es preciso abrir el abceso por incision libre, y entonces sale un pus fétido y putrefacto. ¿Cómo se han efectuado estos cambios? De no admitir la teoria de los gérmenes, casi me atrevo á decir que no puede darse explicacion. Tales modificaciones deben reconocer su causa en la introduccion de alguna cosa venida del exterior, pues la inflamacion de la herida puncionada, suponiendo que se ha verificado, no explicaria el fenómeno. Con efecto, una simple inflamacion, ya sea aguda ó crónica, no puede producir la putrefaccion, aun cuando ocasione la formacion de pus. El evacuado primitivamente era perfectamente normal, y no conocemos nada que explique la alteracion de su cualidad, como no sea la influencia de alguna cosa del ambiente. ¿Y qué cosa puede ser esta? La introduccion del instrumento en el aceite y las precauciones subsiguientes previenen la entrada del oxígeno. Ahora bien, si permitis que algunos átomos de este gas se abran paso hasta el interior de la herida, seria una singular presuncion suponer que haya podido en tan corto espacio de tiempo efectuar tales cambios en una masa de materias albuminoides. Además, la membrana piogénica está provista abundantemente de vasos capilares, por los cuales circula sin cesar una sangre arterial rica en oxigeno.

Luego, no puede haber la menor duda de que si este elemento es capaz de ejercer alguna accion sobre el pus, tal accion la ha ejercido ya antes que el pus fuese extraido totalmente.

Así, pues, la teoría del oxígeno, es de todo punto impotente para explicar la putrefaccion en tales circunstancias. Pero si admitimos la teoria de los gérmenes, la dificultad se desvanece al instante. Habiendo quedado á libertad del aire el instrumento puede meterse polvo en el ángulo que forman entre sí la cánula y el trócar, polvo que estando así protegido contra la limpieza, penetrará sin duda en los tejidos. Cuando se retire el trócar, dicho polvo seguirá naturalmente ocupando el borde de la cánula y nada más verosímil que algunas partículas dejen de ser arrastradas afuera por el pus, quedando de ese modo en la cavidad del abceso. Ahora

bien, la teoria de los gérmenes nos enseña que dichas partículas contienen casi siempre gérmenes de organismos putrefactores, y que si ha quedado uno solo en el líquido albuminoide de la herida, se desarrollará rápidamente, merced á la elevada temperatura del cuerpo, circunstancia que basta para explicar el fenómeno de que nos ocupamos.

Mas por notable que sea el paralelo entre la putrefaccion y la fermentacion vinosa, pueden darse otras pruebas de la similitud de los dos procesos ó desarrollos en lo tocante á la extension del efecto producido, en comparacion con la pequeñez é inercia de la causa. Con auxilio del microscopio podemos ver la tórula del mosto ó de la cerveza en fermentacion. De consiguiente, hay motivo de preguntarse si tambien existe algun organismo en el pus en putrefaccion. Efectivamente hay uno. Una gota cualquiera de materia pútrida, examinada bajo un aumento conveniente, se ve cuajada de miriadas de pequeños séres llamados vibriones, que proclaman su vitalidad de una manera indudable con la energia de sus movimientos. No es cuestion de una probabilidad, sino un hecho demostrado, el que la masa toda del pus putrefacto está poblado de organismos vivientes y que esto es el resultado de la introduccion de la cánula y del trócar, pues la primera materia sacada estaba tan libre de vibriones como de putrefaccion; y de ese modo la extension de los cambios que se han verificado en el pus deja de ser sorprendente. Sabemos, con efecto, que una de las propiedades de los organismos vivientes consiste en el poder extraordinario de ejercer transformaciones en los medios ambientes en que se encuentran, transformaciones que por otra parte son desproporcionadas relativamente á la energia de meros compuestos químicos. Y apenas puede dudarse que los animales desarrollados en el líquido albuminoide del abceso, y nutridos á expensas de éste, hayan alterado su constitucion de la misma manera que alteramos nosotros las materias con que nos alimentamos.

En las operaciones antisépticas se procede de manera que cualquier parte de los tejidos puesta en descubierto por el instrumento esté al abrigo de los gérmenes, ó á lo menos que si éstos se ponen en contacto con la herida queden destruidos casi al momento. Al efecto se rocian las superficies expuestas con algunas gotas de ácido fénico diluido, que especialmente es fatal á dichos organismos, y se rodea la herida con vendas antisépticas colocadas con sumo esmero. Para todos los que están acostumbrados á los experimentos exactos, es evidente que aquí se trata de un observador minucioso, de un hombre que tiene á la mira un objeto perfectamente definido y va tras él con una constancia infatigable y una fé ardiente y firme. El resultado de sus estudios fué, como dice él mismo, el que en su clínica en medio de abominaciones harto repugnantes para mencionarlas aquí y cerca de salas en que la muerte se cebaba bajo la forma de pioemia, erisipela y gangrena, logró conservar á sus enfermos absolutamente libres de tan terribles azotes.

Si en vez de servirse del ácido fénico hubiese rodeado las heridas con aire debidamente filtrado, el doctor Lister sostiene que igual resultado habria obtenido. En un aposento en que los gérmenes flotan por el aire y se pegan á los vestidos y á las paredes, tales condiciones serian difíciles por no decir imposibles. Mas la cirugía está acostumbrada á una clase de heridas en que la sangre se mezcla libremente con el aire que ha pasado por los pulmones, y es cosa muy notable que ese aire no produzca la putrefaccion. El profesor Lister es el primero que sepamos que dió una interpretacion científica de este fenómeno que describe y comenta así:

«Me explico el fenómeno notabilísimo de que en una fractura simple de las costillas, si el pulmon queda puncionado en un fragmento, la sangre esparcida por la cavidad pleural no sufre descomposicion, por más que se ha mezclado con el aire libremente. El aire es á veces aspirado hácia esta cavidad en abundancia tal, que abriéndose paso á través de la herida en la *pleura costales*, hincha el tejido celular de todo el cuerpo. Pero esto no causa ningun temor al cirujano (aunque si la sangre se putrificase en la pleura acarrearia infaliblemente una pleuresia supurativa perniciosa).

La raza porque el aire introducido en la

cavidad pleural aun á través de un pulmon herido, produce efectos enteramente distintos del que penetra directamente por una herida del pecho, fué para mí un misterio hasta que, merced á la teoria de los gérmenes comprendí cuan natural era que el aire se filtrase en los bronquios, una de cuyas facultades consiste en retener las partículas de polvo inhaladas é impedir que entren en las células correspondientes al aire.»

Ocasion tendremos de volver á tratar de esa notable hipótesis.

Los partidarios de la teoria de los gérmenes, en los dos casos de la putrefaccion y de las enfermedades epidémicas sostienen que las dos toman origen, no á costa del aire, sino de algo contenido en el aire; y afirman que este algo no es un vapor, ni un gas, ni una molécula de ninguna especie, sino una *particula* (1). El doctor Simon emplea el término *particulata* en su memoria al *Medical department of the Privy Council* para describir la supuesta constitucion de la materia contagiosa, y si los experimentos del doctor Sanderson no han demostrado actualmente que el virus del sarampion es una *particulata*, á lo menos es muy probable que lo sea. Considerable importancia tienen los conocimientos claros sobre este punto, como quiera que ciertos métodos preciosos en el tratamiento de las partículas, quedarian sin efecto, si se aplicasen á las moléculas.

§ 6

El rayo luminoso como medio de investigacion de las materias suspensas en el aire.

Mientras que por una parte mi propia intervencion en esta cuestion importantísima, se veia sancionada por hombres eminentes, fué por otra parte objeto de ataques tan ingeniosos como variados. Al efecto, diré solamente que cuando la inteligencia cede el campo á un sentimiento de envidia, éste es capaz de dar orígen á toda clase de errores. Así, por ejemplo, mis censores, en su mayoria, dirigieron sus ataques contra proposiciones que nunca me habia ocurrido admitir, y contra reivindicaciones que jamás hice. Hé aquí el asunto en pocas palabras. Durante el otoño de 1868 me hallaba muy ocupado en las observaciones mencionadas en el artículo anterior. Desde 15 años atrás habia tenido por costumbre servirme del polvo en suspension para revelar la huella del rayo luminoso en el aire, pero hasta entonces no habia invertido intencionadamente el procedimiento y empleado al revés el rayo luminoso para estudiar y examinar el polvo. En una memoria presentada á la Sociedad Real en diciembre de 1869, consagré una atencion muy especial á la absurda generacion espontánea, hasta fijarme en la teoria de los gérmenes con respecto á las enfermedades epidémicas.

La incapacidad del aire filtrado á través de la uata para engendrar la vida microscópica, habia sido demostrada por Schröder y Pasteur, siendo además evidenciada la causa de tal incapacidad. La experiencia probó que ninguna cantidad sensible de luz podia ser dispersada por causa de las moléculas del aire; y que la luz modificada traia siempre su orígen de las *particulas* en suspension. La circunstancia por otra parte de que la supresion de éstas anula simultáneamente el poder de dispersar la luz y engendrar la vida, derribó de rechazo la facultad creadora que se atribuye al aire, fijándola en algo que en el aire está suspendido. Hiciéronse pasar gases

---

(1) Acerca del volúmen no hay probablemente límites determinados entre las moléculas y las partículas; las unas se funden gradualmente en las otras, pero la distincion en que insisto es la siguiente: El átomo ó la molécula en estado de libertad, forma siempre parte de un gas, y la partícula nunca. Una partícula es una porcion de materia, liquida ó sólida, formada por la agregacion de átomos ó moléculas.

de toda especie á través del tapon de uata, y de ahí resultó que el algo retenido por ella no podia ser una materia en estado gaseoso. De donde se infiere, además, que protegida como estaba en tales experimentos la retina, podia convertirse en un nuevo y poderoso instrumento de demostracion por lo tocante á la teoria de los gérmenes.

Dichas observaciones revelaron en consecuencia el peligro inherente á experimentos de esta clase, demostrando que sin grandes cuidados, muy superiores á los que hasta entonces se habian tenido, pueden dejarse abiertas las puertas á los más crasos errores. Era especialmente óbvio que el método químico empleado por Schulz y al cual se recurrió despues tan á menudo, podia llevar á las deducciones más erróneas; y que ni los ácidos ni los álcalis tenian el poder de rápida destruccion que se les atribuia. En suma, el empleo del rayo luminoso evidencia la causa del buen éxito en experimentos esmeradamente practicados, como los de Pasteur, al paso que hace tambien evidente la certitud del error en los experimentos hechos de una manera menos escrupulosa.

§ 7

Experimentos opuestos á la teoria de los gérmenes.

No es mi ánimo sentar un aserto semejante sin pruebas que lo justifiquen. Tomemos por ejemplo los experimentos muy esmerados del Dr. Hughes Bennett, presentados á la Sociedad Real de los cirujanos de Edimburgo el 17 de enero de 1868. Por frascos que contenian ficoide glacial, de heno ó de té, hizo Bennett pasar una corriente de aire conducida por dos tubos en forma de U, el uno de los cuales encerraba una solucion de potasa cáustica y el otro de ácido sulfúrico. «Estos dos tubos estaban tapados por fragmentos de piedra pómez, destinada á contrariar el aire para impedir la posibilidad de que pasaran los gérmenes.» El aire debia igualmente borbotar á través de bolas de Liebig, en las que se encontraba ácido sulfúrico y despues algodon-pólvora.

Con tales precauciones era natural que el doctor Bennett creyese en la ausencia completa de gérmenes en sus tubos en forma de U; pues antes de las observaciones que acabo de referir, tambien lo creia yo. Pero mis experimentos destruyen semejante suposicion, á más de que el algodon-pólvora no retiene la totalidad de las materias en suspension, como no esté fuertemente apelotonado, y no hay indicacion alguna en la memoria del Dr. Bennett de haberse tomado dicho cuidado. En suma, la simple inspeccion del aparato empleado por este sabio basta para dejarnos prever los resultados que obtuvo, á saber: un retardo en el desarrollo de la vida ó su ausencia total en ciertos casos, y su presencia en otros.

En una primera série de experimentos se llenaron ocho botellas con aire filtrado y cinco con aire ordinario. A los diez ó doce dias el grupo de cinco se cubrió con una especie de moho en el interior, mientras que las otras ocho emplearon de cuatro á nueve meses para sufrir la misma transformacion, salvo una de estas ocho que se conservó intacta despues de este período. En la segunda série de experimentos no ocurrió ni una sola excepcion.

En la tercera se desecharon los tapones de corcho, reemplazándolos por tapones de cristal. Cierto número de botellas que contenian decocciones de té, carne de vaca, ó de heno, se llenaron con aire comun, y otras con aire filtrado. En cada una de las primeras apareció pronto el moho al reves de las demás, en que ninguna lo tuvo. En resúmen, esos experimentos destruyen por completo la doctrina que el Dr. Bennett pretende defender.

En todos estos casos negativos el aire fué conducido por los tubos en forma de U y de las burbujas en la infusion hirviente. El doc-

tor Bennett hizo una cuarta série de experimentos en la que tenia que insuflar el aire y dejaba enfriar las botellas. Hizo entonces pasar aire filtrado á los frascos y, despues de algun tiempo, encontró moho en todos ellos. ¿Qué consecuencia puede sacarse de ese experimento? No la que supone Bennett, de que el líquido hirviente empleado en sus primeras operaciones habia destruido los gérmenes, sino de que el aire que antes de taparse los frascos se habia elevado á una temperatura de 212°, está en tales condiciones demasiado rarificado para mantener la vida. Tan notable es esta consecuencia, que merece citarse en los mismos términos de su autor: «Fácil es concebir, dice, que el aire sometido á la temperatura de ebullicion está tan rarificado, que apenas merece nombre de aire y que es más ó menos impropio para mantener la vida animal ó vegetal.»

Podrian citarse cifras contrarias con respecto al asunto, pero no es necesario. Durante una parte considerable del año, vivo en un medio ambiente de menos densidad que el descrito por el Dr. Bennett como mereciéndole apenas el nombre de aire; y lo mismo sucede con los habitantes de los altos *chalets* alpestres, en donde viven con sus rebaños y las hierbas que les nutren, á la vez que el gamo cria sus pequeñuelos en una atmósfera todavia menos densa. Por otra parte, el mundo de los insectos demuestra á veces una exuberancia extraordinaria á grandes alturas.

En una quinta série de experimentos se llenaron de infusiones diez y seis botellas, y en cuatro que no se habian calentado, introdújose aire ordinario, sucediendo que al poco tiempo se desarrolló en ellas el moho. En otras cuatro que contenian una infusion hirviente, se introdujo tambien, y ningun moho cuajó en ellas; y en otro grupo de cuatro que se habian sometido á la ebullicion, enfriándolas luego, se introdujo aire filtrado y tampoco pudo desarrollarse el moho. Finalmente, en las cuatro últimas botellas que encerraban una infusion hirviente, se insufló aire filtrado y no apareció el menor rastro de moho en ellas. De manera, que en los cuatro casos, éste no se manifestó sino en una infusion fria puesta en contacto con aire ordinario.

No saca el Dr. Bennett la consecuencia que de sus experimentos tan claramente se deduce. Antes al contrario, quiere en ellos encontrar una defensa de la teoria de las generaciones espontáneas, creyéndose muy convencido de que los gérmenes no podian pasar á través de los tubos de potasa y de ácido sulfúrico, y así la presencia del moho, aun en la ínfima minoria de los casos en que el aire habia pasado á través de tales tubos, fué para él la prueba evidente de su orígen espontáneo. Y explica la falta de vida, en muchos de sus experimentos, por medio de una interpretacion que no puede sostener la crítica por un instante siquiera. Sabiendo, como sabemos, que varias partículas pueden pasar impunemente á través de los ácidos y de los álcalis, los resultados del Dr. Bennett son precisamente los que deben esperarse. Efectivamente, su armonia con los hechos recien descubiertos, es una prueba de la conciencia y exactitud con que efectuó sus experimentos; pero no estuvo acertado en las conclusiones que de ellos debia sacar.

Las precauciones tomadas por Pasteur al practicar sus investigaciones, y su prudencia en las deducciones que saca, serán de todo punto convincentes para todos los que en la práctica de las investigaciones experimentales se han hecho competentes para juzgar los trabajos de esta especie. El doctor francés encontró gérmenes en el mercurio utilizado para aislar el aire, y nunca tuvo la seguridad de que tales gérmenes estuviesen pegados á los instrumentos empleados ó á su propia persona. De manera, que cuando abrió sus frascos, herméticamente cerrados en el mar glacial, observó con detencion la lima destinada á cortar el cuello y se ponia cuidadosamente de cara al viento para resguardar los frascos al abrirse. Empleando tales cuidados, encontró en diez y nueve casos sobre veinte el aire helado incapaz de engendrar la vida, al paso que otros frascos semejantes, destapados en medio de la vegetacion, quedaron al punto sembrados de elementos vivientes. Pouchet repitió los experimentos de Pasteur en los Pirineos, teniendo la precaucion de mantener las botellas más arriba de su cabeza, y obtuvo resultados diferentes. Pero

habrian sido necesarios muchos cuidados para hacer de este procedimiento una precaucion real. Otra vez más nos permitirá el rayo luminoso juzgar el efecto que es capaz de producir. Quememos papel á la abertura de una campana de cristal, de modo que el humo la llene; un rayo de luz dirigido á través de esta campana forma una huella brillante en el humo. Si se coloca la mano debajo, se desprende un viento vertical de sorprendente violencia, por lo que toca á la débil elevacion de temperatura, desalojando con un aire, comparativamente oscuro, el humo iluminado. A menos de una atencion especial, es posible que un viento semejante se desprendiese del cuerpo de Pouchet hácia la botella, mientras la tenia encima de su cabeza. Si así fuese, la precaucion de Pasteur al ponerse á sotavento seria nula.

Permítase llamar aquí la atencion sobre otro resultado de Pasteur, cuya causa y significacion me reveló cierto dia el rayo luminoso. Preparó veinte y una botellas, cada una de las cuales contenia una decoccion de levadura filtrada y clara. Puso á hervir esa decoccion, de manera que se destruyesen los pocos gérmenes que pudiera contener, y mientras que el espacio que habia arriba del líquido estaba lleno de vapor puro, selló los frascos con auxilio del soplete. Poco despues abrió diez de ellas en los subterráneos hondos y húmedos del Observatorio de París, y las once restantes en el patio del mismo establecimiento. De las primeras, una sola demostró, al cabo de cierto tiempo, algunos indicios de vida, y las nueve botellas restantes no desarrollaron organismos de ninguna especie. En cambio, aparecieron rápidamente en los otros frascos ó botellas que constituian el grupo de once.

Ahora bien, vamos á citar un experimento efectuado en París, sobre el cual pudimos dar alguna luz en Lóndres. Obliguemos al rayo luminoso á cruzar una botella grande llena del aire cargado de gérmenes y de polvo: el rayo la pasará de parte á parte. Pero pongamos otra botella semejante que forme una brecha en el interior del mismo radio; contiene aire *no filtrado*, y sin embargo, no deja ver el menor rastro luminoso. ¿Por qué? Por pura casualidad tropecé con la primera botella en el laboratorio en que habia estado en reposo durante algun tiempo. Dominado por dicha idea, coloqué ante todo tres botellas al lado una de otra llenas de aire cargado de átomos. Despues observé que estaban efectivamente vacias. Mis primeros experimentos habian demostrado que las partículas que son otras tantas fuentes de vida, se adherian á la uata. En el experimento último, las partículas se pusieron, merced á corrientes de aire provocadas por leves diferencias de temperatura, en contacto con la superficie interior á que se adherian. El aire de dichos frascos depositó el polvo y los gérmenes, encontrándose prácticamente libre de materias en suspension.

Habia mandado construir una cámara cuya mitad inferior era de madera, y su mitad superior estaba limitada por cuatro vidrieras. Esta cámara se adelgazaba gradualmente, formando una especie de cono truncado. Media su planta tres pies por dos y medio, y su altura cinco pies y diez pulgadas. El 6 de febrero se cerró, tapando toda grieta que pudiera ser causa de un desaloje de aire, con papel que evitase toda salida. El rayo eléctrico reveló al principio el polvo dentro de la cámara, como lo hacia con el aire, del laboratorio. Examiné casi diariamente el aparato y noté disminucion sensible de materias en suspension, á medida que el tiempo corria. Al cabo de una semana, la cámara estaba ópticamente vacia, no exhibiendo la menor huella de sustancias capaces de dispersar la luz. Eso mismo debió suceder en los tranquilos sótanos del Observatorio de París. Si pudiésemos enviar un rayo eléctrico á través del aire de tales sótanos, su rastro seria invisible sin duda, probando así la indisoluble asociacion de la dispersion de la luz por efecto del aire y de su poder para engendrar la vida. Pasemos ahora ó una aplicacion del rayo luminoso, que me parece más interesante que cuantas he descrito hasta ahora. Recordemos mi referencia á la interpretacion del profesor Lister, relativamente al caso de que el aire filtrado por los pulmones, es incapaz de producir la putrefaccion. «La razon porque el aire, dice, introducido en la cavidad pleural á

través de un pulmon herido, produce efectos muy diferentes del que penetra directamente por una herida sin cesar abierta en el exterior, fué para mí un misterio hasta que por la teoria de los gérmenes supe que era simplemente porque el aire de los pulmones habia de filtrarse en los bronquios, una de cuyas funciones consiste en detener las partículas de polvo inhaladas é impedirles entrar en las células del aire.»

He aquí una sospecha que lleva el sello del génio, pero que necesita comprobacion. Si en vez de las palabras «el aire habia de filtrarse» estuviésemos autorizados para escribir «es perfectamente cierto que el aire está filtrado», la demostracion seria completa. Semejante demostracion es fácil con el rayo luminoso. Una tarde, á fines de 1869, mientras estaba probando diferentes gases puros á través de la senda de un rayo luminoso, me ocurrió la idea de emplear mi aliento en vez de gas. Noté entonces, por vez primera, el tinte extraordinariamente oscuro producido por el aire exhalado *al fin de la expiracion*. Repetí el experimento. Llené mis pulmones de aire ordinario y respiré por un tubo de cristal á través del rayo luminoso. La condensacion del vapor de agua del aliento se manifiesta por la formacion de una nube luminosa blanca, de textura delicada. Suprimimos la nube secando el aire antes de llegar al tubo, ó más sencillamente, calentando el tubo de cristal. El rastro luminoso queda por un momento interrumpido por el aliento, porque el polvo salido de los pulmones suple en gran parte á las partículas desalojadas. Pero pasado algun tiempo aparece un disco oscuro cuyo tono sube gradualmente hasta que al fin de la expiracion el rayo luminoso parece cruzado por un agujero extremadamente negro, en el cual es imposible distinguir la menor partícula. Así el aire más profundo de los pulmones queda absolutamente libre de materias en suspension; y por lo tanto se encuentra en las condiciones exigidas por la explicacion de Lister. Puede repetirse este experimento un número cualquiera de veces y siempre dará el mismo resultado. Creo que debe considerarse como el justo coronamiento de la exactitud de miras del sabio catedrático de Edimburgo y de la impotencia del aire ópticamente puro en lo tocante al desarrollo vital (1).

El ensayo que precede por lo que toca á la teoria que atribuye las enfermedades epidémicas al desarrollo de la vida parasitaria, formaba parte de un discurso leido en la Institucion Real en enero de 1870. El mes de junio de 1871, volví, despues de un corto estudio sobre la polarizacion de la luz por medio de las materias nebulosas, á tratar el mismo asunto, colocándome en el siguiente punto de vista. ¿Cuál puede ser la utilidad práctica de estas curiosidades? Si excluimos el interés concedido á la observacion de nuevos fenómenos y el realce de este interés para la ciencia, en la cual estos fenómenos suelen convertirse en la base de determinadas leyes, tales curiosidades son en sí mismas de escaso valor; y en todo caso serian incapaces de añadir la menor cosa á nuestro bienestar general. Mas aunque estén totalmente desprovistas de utilidad, pueden llamar la atencion á una senda en que no se habria entrado y que pudiera ser orígen de consecuencias prácticas. Al mirar, por ejemplo, el polvo iluminado, podemos preguntarnos lo que es, no ya como agente sobre un rayo luminoso, sino sobre nuestro propio cuerpo. La cuestion toma entonces un carácter práctico. Despues de examinarlo, vemos que ese polvo está principalmente compuesto de materias orgánicas, en parte muertas y en parte vivas. Son fragmentos de paja, de trapos rotos, de negro de humo, de pólen, de esporos, de setas, así como los gérmenes de otra infinidad de cosas. ¿Pero qué tienen que ver todos estos objetos con la economia animal? Me permitiré consignar un fenómeno sobre el cual llamó poco ha mi atencion G. H. Lewes, que me escribia en estos términos:

«Deseo llamar vuestra atencion sobre los experimentos de von Recklinghausen, para el caso en que no hubiesen llegado á vuestro

---

(1) El doctor Burdon Sanderson, llama la atencion sobre la importante cuestion de Brauell, segun la cual el contagio de un animal en estado de gestacion y atacado por una fiebre esplénica, no se comunica á la sangre del feto. La placenta obra entonces como un filtro y retiene las partículas infecciosas.

conocimiento. Son irrefragables confirmaciones de lo que habeis dicho sobre las relaciones que existen entre el polvo del aire y las enfermedades. Hallándome la primavera pasada en el laboratorio del docto catedrático de Wurtzburgo, examiné con él sangre extraida del cuerpo, desde hacia tres semanas, y que se habia conservado en cajitas de porcelana, bajo campanas de cristal. Dicha sangre vivia y crecia, observándose en ella, no solamente los movimientos amiboides de los corpúsculos blancos, sino que tambien daba pruebas evidentes del crecimiento y desarrollo de dichos corpúsculos. Ví, tambien, un corazon de rana que se habia arrancado hacia más de siete dias, y sin embargo latia aún. Existen otros ejemplos de la misma persistente vitalidad ó falta de putrefaccion. Von Recklinghausen no lo atribuye á la ausencia de gérmenes, pues esta palabra ni siquiera se pronunció en nuestra entrevista; pero cuando le pregunté cómo se explicaba el fenómeno, me dijo que el misterio todo de su operacion consistia en poner la sangre *al abrigo de toda suciedad*. Los instrumentos empleados se calentaban hasta ser candentes antes de hacerlos servir; el alambre era de plata y sometido á igual tratamiento; las copas de porcelana, si bien no estaban al abrigo del aire, estaban á cubierto de las corrientes. Von Recklinghausen me dijo, además, que con frecuencia sufria decepciones que él atribuia á las partículas de polvo que habian escapado á sus precauciones.»

El profesor Lister, que fundó en la separacion ó destruccion de dicho polvo un importante método de cirugía, nos explica el efecto de su introduccion en la sangre de las heridas; sangre que se putrifica, se vuelve fétida, y cuando se examina más íntimamente lo que esta putrefaccion significa, se encuentra la sustancia atacada que pulula de vida infusoria, cuyos gérmenes son procedentes del polvo atmosférico.

Sin disputa nos hallamos aquí en presencia de cuestiones prácticas, y en este sentido volveremos sobre un asunto que recientemente ha ocupado una buena parte de la atencion pública.

Por lo tocante á las formas más inferiores de la vida, las opiniones están, y desde mucho tiempo han estado, divididas en dos campos, sosteniendo las unas que no tenemos más que someter materia absolutamente muerta á ciertas condiciones físicas para hacer salir de ella cosas vivientes; y las otras (sin limitar, empero, el poder de la materia) afirman que nunca se ha visto surgir la vida independientemente de una vida preexistente. La cuestion depende de dos factores: el fenómeno y la inteligencia que lo interpreta. Puede, por lo tanto, ser simplemente un estado mental ó un extravio de mi inteligencia el que me impele en esta larga discusion á ver, por una parte, hechos dudosos y una lógica defectuosa, y por otra, un razonamiento firme y los conocimientos necesarios para experimentos minuciosos.

Pero en realidad ¿qué tenemos que hacer de la generacion espontánea desde el punto de vista práctico? Examinémoslo. Hay numerosas enfermedades del hombre y de los animales que, como puede demostrarse, son el producto de la vida parasitaria; y estas enfermedades pueden tomar la más terrible forma epidémica, como en el caso de los gusanos de seda que hemos mencionado. Importa, pues, en alto grado saber si los parásitos en cuestion se han desarrollado espontáneamente ó han sido llevados del exterior. Los medios de prevencion, ya que no de curacion, serán distintos en ambos casos.

Mas no es eso todo: al lado de estos hechos universalmente admitidos existe una gran teoria que aumenta sin cesar en fuerza y claridad, captándose á la vez la simpatia de los prácticos hábiles y de los pensadores profundos del órden medical, teoria segun la cual las enfermedades contagiosas serian generalmente de ese carácter parasitario. Si tuviese algun motivo de arrepentirme de haber expuesto esa teoria, retiraria las pocas palabras que he pronunciado en favor suyo, si estas palabras pudieran inducir á error. Permítaseme indicar brevemente las razones en que se apoyan sus partidarios. Pueden inocularse con sus virus respectivos la fiebre tifoidea, la escarlatina ó la viruela. ¿Y qué resultado se obtiene? Así como un cardo proviene de una semilla de cardo, un higo de otro higo,

la uva de la uva y el espino de otro espino, así tambien el virus tifoideo aumenta y se multiplica en la fiebre tifoidea, el virus escarlatino en la escarlatina y el virus varioloso en la viruela. ¿Qué conclusion sugieren tales fenómenos? Que la cosa que llamamos vagamente virus es en todo caso una especie de semilla; pues excluyendo la nocion de vitalidad, es imposible hallar en todo el dominio de las ciencias químicas una accion que pueda ponerse en paralelo con tales fenómenos de multiplicacion y reproduccion. Solamente puede explicarlos la teoría de los gérmenes.

Por lo tanto, en los casos de enfermedades epidémicas, ya no fijará el médico del porvenir su atencion en el aire viciado ó en las insalubres cloacas, porque sabrá perfectamente que ese aire sucio y esas cloacas poco limpias no pueden crear nada. En cambio, pondrá su atencion en los gérmenes de las enfermedades antes de ocuparse del aire impuro, que si bien inofensivo por sí mismo, es, sin embargo, susceptible de comunicar á los gérmenes una grande energia en su desarrollo. Parecerá que entro ahora en una senda peligrosa, y que anticipo juicios que pueden estar en oposicion con una práctica saludable; mas no hay nada de eso. Si se desea juzgar la impotencia de la práctica medical en el tratamiento de las enfermedades contagiosas, léase el discurso pronunciado en el aniversario de Harvey por el doctor Guillermo Gull en 1871. Tales enfermedades desafian todo el saber del médico, pues siguen su curso, y lo más que puede hacerse contra ellas consiste en cuidados preventivos, lo cual en verdad concuerda perfectamente con su orígen vital. Porque si las semillas de las enfermedades contagiosas son en sí mismas cosas vivientes, es difícil destruirlas, á ellas ó á su progénie sin incluir en la misma destruccion su orígen ó fuente de vida (1).

Se ha dicho que la teoria de los gérmenes pertenece al biologista y al médico, pero ¿dónde están el biologista y el médico cuyas investigaciones sobre el particular puedan compararse, si quiera por un momento, con las del químico Pasteur?

«Por lo que toca á la teoria de los gérmenes, dice el doctor Budd, es una cuestion respecto de la cual hace mucho tiempo estoy muy tranquilo. A contar del dia en que comencé á pensar en ella, no he dudado un momento que la causa específica de las fiebres contagiosas debe consistir en organismos vivientes; á más de que es imposible presentar una sola prueba que caracterice resueltamente la esencia de dichas fiebres, sin servirse de los términos indisolublemente ligados á la nocion de la vida. Véanse los escritos de los adversarios más encarnizados de la teoria de los gérmenes, y en la proporcion de diez contra uno los vereis sembrados de las palabras propagacion, reproduccion, multiplicacion, etc. Y hágase lo que se quiera: si algo hay que decir de las enfermedades contagiosas, no puede prescindirse de esos términos ó de sus equivalentes exactos. Ahora bien, mientras que son perfectamente aplicables á las cosas vivas cuyas cualidades expresan, tales palabras no tienen, por lo que sé, ningun sentido, cuando se dirigen á los agentes químicos.»

---

(1) Sin embargo, más adelante se verá que el sistema preventivo que va empleándose, llegará tal vez á ser un completo método curativo, merced á las pruebas que han suministrado recientes experimentos.

CAPÍTULO II

ESTADO ÓPTICO DE LA ATMÓSFERA EN RELACION CON LA PUTREFACCION Y LA INFECCION

§ 1

Introduccion.

Investigaciones sobre la descomposicion de los vapores por la luz, comenzadas en 1868 y seguidas en 1869, en las cuales era necesario emplear aire ópticamente puro, me llevaron á someter á experimentos las materias suspendidas en la atmósfera. Una seccion de cortas dimensiones consagré á este punto en una memoria publicada en las *Transacciones filosóficas* de 1870.

A la sazon encontré que el aire de los aposentos de Lóndres, que siempre está provisto de numerosas partículas y de materias sobrado finas para ser descritas con esta palabra, despues de filtrado en la uata fuertemente apretada, ó despues de calcinado á través de un tubo de platino candente, ó bien pasándolo con cuidado por la llama de una lámpara de alcohol, no mostrába, al examinarlo con auxilio de un rayo luminoso concentrado, ningun vestigio de materias sostenidas mecánicamente en suspension. La porcion del espacio ocupado por el rayo no podia distinguirse de las partes adyacentes.

Así, pues, quedaba demostrado que la parte puramente gaseosa de nuestra atmósfera, es incapaz de dispersar la luz.

Posteriormente descubrí que para hacer el aire ópticamente puro, bastaba dejarle en reposo durante un tiempo conveniente en un aposento pequeño ó en un vaso adecuado. Las materias en suspension se adhieren gradualmente al techo ó á las paredes del aposento ó caen en el suelo, dejando en medio un aire desprovisto de todo poder de dispersion. Dirigido á través de ese aire el rayo luminoso, aun el más concentrado, no lograria hacer visible su huella.

He mencionado el *techo* y las *paredes,* lo mismo que el suelo del aposento, porque no es la pesantez el solo agente, y quizás ni aun el agente principal en esta separacion de las materias en suspenso. Prácticamente es imposible rodear un vaso cerrado de temperatura absolutamente uniforme; y allí donde hay diferencias de temperatura por pequeñas que sean, no tardan en establecerse corrientes de aire. Por medio de estas leves corrientes, las partículas en suspension van gradualmente poniéndose en contacto con todas las superficies circunstantes; y se adhieren á ellas ó

si no se verifica ninguna distribucion nueva, tales materias desaparecen al fin totalmente.

El notorio paralelismo de estos resultados con los obtenidos en las excelentes investigaciones de Schwann, Schröder, Dusch y Pasteur, en lo concerniente á la *generacion espontánea*, nos inducen á deducir que el poder de dispersar la luz y mantener la vida corresponden al aire atmosférico.

Dicha deduccion fué confirmada por un experimento fácil de reproducir y de la más alta significacion. El profesor Lister, llamó la atencion sobre el fenómeno de que el aire que ha pasado por los pulmones ha perdido la facultad de causar la putrefaccion. Este aire puede mezclarse libremente con la sangre de una herida interna sin exponer á consecuencias peligrosas, y este cirujano, verdadero sabio, tuvo la penetracion de atribuir esa inmunidad á la facultad de filtracion que tienen los pulmones. Antes de que tuviésemos conocimiento de esta hipótesis, habíamos demostrado en 1869 su exactitud de la manera siguiente:

Dirigiendo en una cámara oscura un poderoso rayo de sol al aire cargado de polvo, y respirando por un tubo de cristal (el tubo empleado fué un vidrio de lámpara calentado para evitar la condensacion del aliento), observé al principio una disminucion de la luz dispersada; pero al fin de la expiracion la huella blanca del rayo luminoso, quedó cortada por una brecha perfectamente negra, cuyo tinte marcado se debia á la ausencia total en el aire expirado de toda materia capaz de dispersar la luz. El aparato de que me serví está representado por la figura 1, en la cual *g* es el cristal de lámpara calentado, y *b* la brecha negra cortada fuera del rayo luminoso en su punto más brillante. Así se probó que las partes más profundas de los pulmones estaban llenas de aire ópticamente puro, el cual, como se sabe, es incapaz de engendrar los organismos que forman la esencia del proceso ó desarrollo de la putrefaccion, conforme lo demostrara Schwann (1). Parecia que este método tan simple de exámen, no dejaria de ser utilizado por los especialistas que trabajasen en este sentido. Habian procedido hasta entonces, más bien por induccion que por observacion directa, por ser en general, incapaces de observar los caracteres físicos del medio ambiente en que practicaban sus experimentos. Pero no se ha querido poner en práctica nuestro método, y por esto creo conveniente consagrar algunas consideraciones, que tuve el honor de hacer en conferencia pública el año 1875, para demostrar de una manera más completa la eficacia que se le debe atribuir.

Deseo á la vez afirmar en mi ánimo y á ser posible en el de los otros, la vaguedad, confusion é incertidumbre que reinan en las doctrinas de la generacion espontánea. Ya Pasteur pronunció respecto de ella la palabra *quimera*, expresando la firme conviccion de que, sin embargo, es posible suprimir en lo venidero todas las enfermedades epidémicas, fundándose en la teoria de los gérmenes.

Por lo tanto, es de la mayor importancia para los médicos ó, mejor dicho, para la humanidad entera, saber si el ilustre filósofo francés está en lo cierto. Cumple notar que los trabajos de Pasteur, que por mucho tiempo fueron considerados como modelos para la mayoría del mundo médico, han sido en estos últimos años expuestos á numerosos ataques. Se criticaron sus deducciones, practicándose experimentos contradictorios tan numerosos y variados y con apariencia tal de exactitud, que muchos comenzaron á dudar de aquel sabio. Dichas contradicciones

---

(1) «Ninguna putrefaccion, dice Cohn, puede producirse en una sustancia azoada, si se conserva fuera del contacto de bacterias nuevas, despues de haberse destruido las que podia contener. Pero la putrefaccion comienza tan pronto como nuevas bacterias, aun en muy corto número, se han introducido accidental ó intencionadamente; y progresa en proporcion directa de la multiplicacion de estos pequeños seres ó retarda, cuando no tienen más que una débil energia vital (por ejemplo, bajo la influencia de una temperatura baja); y en fin, termina con todas las causas que detienen el desarrollo de las bacterias ó que las matan. Luego, todo medio ambiente que les sea funesto, es antiséptico ó desinfectante.» De ahí la necesidad de saturar prudentemente la atmósfera de sitios atacados por enfermedades contagiosas con el ácido fénico ú otros succedáneos que tengan la facultad de aniquilar los seres infinitamente pequeños que fomentan ó desarrollan las enfermedades epidémicas.

no solamente las suscitaron personas extrañas á la ciencia, sino tambien eminentes biologistas de Inglaterra y de los Estados Unidos. La opinion médica de la Gran Bretaña se manifestó correctamente en un número del *British medical Journal*. Esta revista respondiendo á la cuestion: «¿De qué manera se engendra y propaga el contagio? dice: á pesar de una suma de trabajo casi incalculable, los resultados actualmente obtenidos, especialmente acerca del modo de generacion del contagio, son poco concluyentes. Ni siquiera están de acuerdo los observadores sobre el punto de si las ténues partículas, cuyo descubrimiento acabamos de relatar, y los demás gérmenes de las enfermedades son siempre el producto de cuerpos semejantes preexistentes, ó si bajo ciertas condiciones propicias llegan á la existencia de *novo*».

Con el fin de disminuir en lo posible la incertidumbre de que se acaba de hacer mérito, me permití someter á la Sociedad Real y máxime á los que estudian la etiología de las enfermedades, la siguiente descripcion del modo de proceder adoptado en mis investigaciones y los resultados que he conseguido.

§ 2

Método de experimento.

Mandé construir una cámara ó caja, cuya fachada era de cristal y todas las demás partes eran de tablas. En la cara posterior se practicó una puertecita que se abre y cierra sobre charneras, al paso que á uno y otro lado habia dos vidrios enfrente el uno del otro. En el centro del techo se abrió un agujero de dos pulgadas de diámetro, que se cierra herméticamente con un tapon de cauchú. El tapon á su vez está horadado por una abertura en la que pasa el tubo de una larga pipeta, que termina arriba en pequeño embudo.

Un cuello circular de estaño, de dos pulgadas de diámetro y una y media de alto, rodea la pipeta, estando relleno de uata ó algodon en rama, humedecido con glicerina, el espacio comprendido entre el tubo de la pipeta y las paredes del cuello de estaño. De ese modo la pipeta al moverse de arriba abajo no solamente va guiada y apretada por el cauchú, sino que además pasa por una especie de *caja de estopas* provista de uata viscosa. Por otra parte la anchura del agujero cerrado por el cauchú asegura una amplitud bastante considerable al juego lateral del extremo inferior de la pipeta. En otras dos pequeñas aberturas practicadas en el techo de la cámara se hallan enclavados los extremos de dos pequeños tubos destinados á poner en comunicacion el espacio interior con la atmósfera. Dichos tubos están replegados de una manera serpeada y su extremo libre dirigido hácia bajo, para que pueda retener las partículas arrastradas por las leves corrientes que origina la variacion de temperatura entre el aire exterior y el de la caja.

El fondo de la cámara está cruzado por dos séries de agujeros, seis en cada série, y en los cuales se colocan doce tubos de ensayo destinados á contener el líquido que debe exponerse á la accion del aire ópticamente puro.

El aparato está representado por la mencionada figura 2, en la cual *w w* son las ventanas laterales por las que se ve el rayo revelador cuando pasa á través de la lámpara *l* cruzando la caja *c*; *p* es la pipeta; *a* y *b* los tubos replegados que ponen en comunicacion el aire interior con la atmósfera. Los tubos de ensayo cruzan el fondo de la caja y se ven por encima.

El dia 10 de setiembre de 1875 cerróse esta caja; y el rayo luminoso concentrado, al pasar por las dos ventanas, mostró el aire interior cargado de materias en suspension. Examinóse de nuevo la cámara el dia 13, y antes de penetrar en ella ó salir el rayo lu-

minoso dejaba un rastro brillante en el aire que se disipaba en el interior. De consiguiente habian bastado tres dias de reposo para determinar la separacion de todas las materias en suspension, adhiriéndose á las superficies interiores, en las que estaban retenidas por una capa de glicerina, con que antes se habian untado al efecto.

§ 3

Modo de accion sobre la orina.

Sumergida la pipeta en los tubos se proyectó sucesivamente una cantidad de orines en ocho de ellos el dia 13 de setiembre. Llenóse con este líquido hasta la mitad cada tubo; luego se sumergieron en una solucion salina en ebullicion, así como tambien se hizo hervir el líquido por espacio de cinco minutos. Elevóse una cantidad de vapor por la cámara condensándose en gran parte, y la porcion no condensada escapó á una baja temperatura por los tubos replegados *a* y *b*. Antes de retirar la solucion salina se metieron tapones en dichos tubos para evitar que al enfriarse la cámara penetrase en ellos el aire susceptible de arrastrar partículas con él. Mas tan pronto como la temperatura interior bajó al nivel de la exterior, se quitaron aquellos tapones que eran de uata ó algodon en rama.

La caja contenia 1,666 piés cúbicos de aire, que estaban en contacto con el líquido de los tubos. No se suprimió la comunicacion con el aire exterior ni se modificó, ya fuese por calcinacion ó por filtracion, ni se emplearon la uata ni los cierres herméticos. Su propia tendencia á bajar fué el único medio utilizado para desembarazar el aire de sus materias en suspension.

Al propio tiempo se llenó con el mismo líquido otra série de ocho tubos, que tambien se sometió á la ebullicion. La sola diferencia entre los dos grupos consistia en que los últimos tubos se colocaron en un soporte al lado de la cámara que contenia los primeros, y quedaron expuestos al aire ordinario del laboratorio.

Para distinguirlos fácilmente llamamos á los tubos metidos en la caja *tubos protegidos*, y á los abiertos al aire ordinario *tubos expuestos*.

El dia 17 de setiembre todos los tubos protegidos estaban brillantes y claros, al paso que los tubos expuestos estaban manifiestamente turbios, y además se notaron vestigios de moho en la superficie del líquido expuesto. Estas manchas de moho fueron extendiéndose más cada dia, hasta que por último formaron una capa espesa encima de cada columna líquida. Al propio tiempo el color de la orina pasaba del tinte claro moreno el color pardo rojo. Estos experimentos me impresionaron sobremanera dándome la prueba de que la causa de la corrupcion no estaba en el propio líquido sino en los gérmenes de descomposicion que el aire lleva.

El 27 de setiembre me procuré un microscopio que aumentaba en 1,200 diámetros y con auxilio de este instrumento el estado turbio del líquido demostró que se debia á una infinidad de bacterias dotadas de un movimiento extremadamente activo. Cohn explica perfectamente la opacidad, siendo el índice de refraccion de las bacterias algo diferente del tinte del medio ambiente: una desviacion de la luz produce la diferencia. Esa dispersion y el aspecto opalino que ofrece, son, sin embargo, independientes del movimiento de las bacterias.

Desde la fecha últimamente citada examiné con frecuencia el líquido tanto á simple vista como con el microscopio. En el primer caso aparecia muy turbio; en el segundo pululante de vida. Su olor era pútrido. *Mientras tanto todos los tubos protegidos presentaban un líquido perfectamente conservado en aparien-*

cia. Durante cuatro meses subsistió tan transparente y rico en color como la más brillante cerveza.

El 1.° de octubre se practicó otro experimento idéntico al que acabamos de describir, sirviéndose de líquido igual y de una cámara mucho más pequeña que la empleada por nosotros. La capacidad de la nueva caja era de 451 piés cúbicos, y en vez de doce tubos se colocaron solamente tres en su fondo de una manera firme y hermética.

Lo mismo que para los tubos de la cámara mayor se llenaron los tres tubos con una pipeta y se les sometió á la ebullicion durante cinco minutos en una solucion salina. Al lado se colocaron otros tres tubos que contenian igual líquido tratados exactamente de la misma manera, pero expuestos al aire ordinario. A los cinco dias todos los tubos expuestos estaban turbios y al exámen del microscopio se vió que en ellos pululaban las bacterias. Su color habia pasado del tinte pardo claro al oscuro anaranjado. El dia 25 fueron examinados nuevamente y se observó que aun subsistian las bacterias. Dos meses despues de esta fecha la infusion, disminuida por la evaporacion, mantenia con notable persistencia la vida bacterial.

En tanto que ocurria en el exterior este proceso ó desarrollo de putrefaccion, los tubos abiertos en el aire ópticamente puro de la cámara continuaron perfectamente claros y exentos de dicha vida.

La cámara grande que hemos descrito y representado con la figura 2, fué la primera que se utilizó: el líquido está indicado en ella por el dibujante como llenando únicamente una pequeña porcion de los tubos de ensayo. Esta mengua del volúmen es en parte debida á la evaporacion. En los experimentos siguientes se llenaron casi de dicha infusion unos tubos de ensayo que medían de una á dos pulgadas de diámetro. Como en el primer caso, esos tubos se guardaron á veces hasta que una lenta evaporacion por los tubos replegados hubiese reducido el líquido á la tercera ó cuarta parte de su volúmen primitivo. Así, pues, cada operacion era en realidad una série de experimentos que se alargaba por espacio de meses enteros sobre infusiones de diferentes fuerzas, alcanzando las últimas el mayor grado de concentracion.

§ 4

Infusion de carne.

Construyóse otra cámara destinada á contener seis tubos de ensayo, semejante en todos sus puntos á las otras dos, pues tenia una cara de cristal, dos ventanas laterales y una puerta detrás. Su capacidad era de 857 pulgadas cúbicas. Cerróse el dia 21 de setiembre y se la encontró libre de materias en suspenso el dia 24. Púsose carne de carnero á cocer y licuar durante cuatro horas en agua á la temperatura de 120° Faraday (1). Filtróse cuidadosamente despues la infusion y se introdujo en los seis tubos de ensayo por medio de una pipeta que formaba parte integrante de la cámara.

El jugo de carne ostentaba un hermoso color rojo; pero con la ebullicion coagulóse su albúmina, que arrastró, al precipitarse, la materia colorante. El líquido era perfectamente claro; la espuma era considerable al principio de la ebullicion. Al lado de esta nueva cámara se colocó un soporte que contenia seis tubos de ensayo llenos de igual infusion, pero expuestos al aire ordinario.

El dia 27 todos los frascos exteriores estaban notoriamente turbios; el 28 se encontraron llenos de bacterias, las cuales el dia 30 formaban asombrosos grupos. El 15 de octu-

(1) Temperatura recomendada por los partidarios de la generacion espontánea.

bre se examinaron nuevamente los tubos y se vió que la vida no habia menguado en ellos. Así siguieron las cosas hasta el dia 30 de noviembre.

Durante todo ese tiempo la infusion puesta en contacto con el aire privado de partículas, continuó siendo tan clara como el agua destilada y enteramente libre de vida.

El dia 14 de noviembre infecté uno de los tubos claros, introduciéndole con la pipeta algunas gotas de la infusion expuesta en 12 de noviembre y que dos dias habian bastado para volver turbia. La infusion inoculada dió el dia 15 señales de turbidez y al siguiente se habia desarrollado activamente en ella la putrefaccion, quedando el líquido muy sucio y lleno de vida.

Poco despues se hicieron nuevos experimentos sobre otra infusion de carne en un aposento cuyo aire estaba ópticamente puro. Púsose á cocer la infusion antes de ser introducida, precipitando la albúmina por filtracion. El líquido claro que se hizo hervir durante cinco minutos el dia 1.° de octubre en una solucion salina, se dejó abandonado al aire del aposento. Otra série de tubos expuestos que contenian la misma infusion tratada de un modo análogo se colocó al lado de los tubos protegidos. El dia 4 todos los tubos exteriores estaban turbios y hasta sucios, pululando en ellos las bacterias. Schröder y Cohn demostraron que las diferencias de colores son el producto de diferentes especies de estos pequeños séres. En los tres tubos expuestos de que ahora se trata, el pigmento era amarillo verde.

Más de tres meses despues de su preparacion, la infusion de los tubos protegidos, considerablemente disminuida, por la evaporacion, era tan clara como el primer dia.

§ 5

Infusion de carne de vaca.

Sacada la grasa de un pedazo de carne de vaca, asado, se cortó en pedazos poniéndolos á digerir durante tres horas á la temperatura de 120° Faraday. Separóse entonces el líquido para cocerlo y filtrarlo, quedando tan claro é incoloro como el agua pura. El 4 de octubre fué introducido en tres tubos protegidos por una cámara de 451 piés cúbicos de capacidad. Sometiósele á la ebullicion durante cinco minutos en una solucion salina, y tres tubos expuestos, que contenian la misma infusion, se colocaron al lado de los tubos protegidos. El dia 5 los tubos expuestos ostentaron señales de tinte opalino, y el 6 estaban turbios y llenos de bacterias de color verde. Durante meses enteros conservaron esos tubos expuestos su aspecto sucio, su color y su vida pululante de bacterias.

Mientras que la infusion de carne de vaca, expuesta, se corrompia de esta manera, todas las infusiones protegidas siguieron siendo perfectamente frescas y claras.

§ 6

Infusion de gado.

Cortóse un pedazo de gado y se puso á digerir el dia 24 de setiembre, introduciéndolo luego en seis tubos protegidos. Como la de carne, su albúmina se coaguló en el acto de la ebullicion, yéndose á caer en el fondo y dejando encima un líquido perfectamente

límpido. Colocáronse seis tubos expuestos llenos de idéntica infusion al lado de los seis protegidos.

El dia 27 estaban los tubos expuestos enteramente turbios y hormigueando de bacterias. El 29 mostró uno de estos tubos un hermoso color verde; y otros tres ostentaron igualmente el propio color, si bien que algo más tarde. La vivacidad de los organismos era extraordinaria y muy variadas sus formas. Deslizábanse rápidamente yendo y viniendo á través del líquido, tropezando unos con otros, retrocediendo y culebreando, con lo cual hacian muy difícil el admitir la teoria de la naturaleza vegetal que les atribuian los mejores micrógrafos.

Durante cerca tres semanas los tubos protegidos permanecieron perfectamente claros. Al objeto de ganar espacio se colocó despues dicha infusion fuera de la cámara, y al cabo de poco tiempo uno de los seis tubos se volvió turbio, poblándose de organismos, cuyos gérmenes debian haberse desprendido de las paredes de la caja y haber sido proyectadas en el tubo; puesto que durante más de un mes éste fué el único que se veia infectado, estando en compañia de los otros cinco claros. El aire que contenia los productos gaseosos de la putrefaccion, tenia libre acceso á todos, pero la infeccion no se extendió más. Por todo el tiempo que los organismos estuvieron apartados de los tubos, el gas desarrollado en estos por la putrefaccion no tuvo poder infectante.

El dia 14 de noviembre introduje en dos de los tubos perfectamente claros una infusion de gado que despues de hervida, habia estado expuesta dos dias al aire. El 15 ambos tubos habian visiblemente caido en infeccion; y el 16, la enfermedad, si puedo hablar así, se habia apoderado completamente de dicha infusion. Uno de los dos habia recibido únicamente una gota ó dos de la infusion pútrida, mientras que se habia echado en el otro una cantidad diez veces mayor; y no obstante, ambos aparecieron igualmente turbios en el mismo dia. La infeccion obró exactamente lo mismo que el virus de las viruelas, del cual una pequeña cantidad produce á la larga idéntico efecto que otra mayor.

§ 7

Infusion de nabo.

La decoccion de nabo ofrecia un interés especial á consecuencia del papel importante que desempeña en los experimentos de los heterogenistas. La escogí, pues, con preferencia, proponiéndome comprobar si eran exactas ó no las observaciones hechas con esta infusion.

Observé escrupulosamente las condiciones propuestas relativamente á la fuerza de la solucion, la temperatura á que debia mantenerse la digestion y el tiempo qua ésta habia de durar. Cortóse el nabo en rebanadas delgadas y se puso á digerir durante cuatro horas en una vasija llena de agua, puesta en baño maria á la temperatura exacta de 120° Faraday. Filtróse cuidadosamente la decoccion introduciéndola por medio de una pipeta en su cámara, y haciéndola hervir durante cinco minutos. Llenáronse con esta infusion seis tubos protegidos el 24 de setiembre, al paso que otros seis se depositaron en un soporte, exponiéndolos al aire ordinario del laboratorio.

El dia 27 se veian distintamente turbios los tubos expuestos, y al exámen del microscopio se vió que estaban poblados de bacterias. En revancha los tubos protegidos se ostentaban perfectamente claros. Añadióse á uno de los tubos exteriores un poco de agua destilada; y la materia germinativa, sea cual fuere, debia ser abundante en el agua, por cuanto el tubo al cual se añadió este líquido, sobrepujó con mucho á los otros en la rapidez del desarrollo de la vida. El dia 30 contenia ese tubo

enjambres de bacterias de corto tamaño, pero de asombrosa actividad. Los otros tubos expuestos estaban igualmente cargados de organismos, si bien que mayores y más lentos, á la vez que mucho menos numerosos que los del tubo en que se habia añadido agua. Algunos de los tubos expuestos comenzaron á aclararse el 5 de octubre, cayendo las bacterias al fondo en forma de un espeso sedimento, como si muriesen de inanicion.

Durante tales cambios los tubos protegidos permanecieron inalterados, siendo el líquido de cada uno de ellos tan claro como el dia de su introduccion.

Sentia entonces un deseo especial de comprobar los resultados con una contra-prueba. Mandé preparar otras dos cámaras para contener tres tubos cada una, y en vez de una puerta, se hizo móvil todo el tablero de la parte posterior. Pasados dos ó tres dias de reposo, las dos cámaras se vieron libres de materias en suspension, y el dia 1.° de octubre se introdujo la infusion de nabo, haciéndola hervir por espacio de cinco minutos en una solucion salina.

Al primer experimento se sostuvo la temperatura de digestion, teniendo la vasija que contenia la infusion en un baño de agua caliente. Entonces se cortó el nabo en un plato y fué colocado delante de un hornillo. Puede atribuirse al calor radiante un poder oculto, pero real, semejante al descrito para los rayos actínicos. Por esa razon repetí al pié de la letra el modo de digestion seguido por los heterogenistas modernos.

Colocóse junto á dichas cámaras una série de tres tubos expuestos que contenian exactamente el mismo líquido. El 4 de octubre se vió que todos los tubos expuestos estaban turbios y pululando de bacterias. En dos de estos tubos eran notablemente más numerosas y vivas que en el otro. Pero son frecuentes tales diferencias entre tubos sensiblemente contiguos y que contienen la misma infusion. Además, se vió el dia 9 que los dos tubos más activamente cargados estaban en parte coronados por magníficas masas de *penicillium glaucum* (1). Estas masas se desarrollaron gradualmente hasta cubrir toda la superficie con una espesa capa viscosa que debió interceptar seriamente el oxígeno necesario á la vida de las bacterias, puesto que perdieron la facultad de moverse, y cayeron en el fondo, dejando el líquido claro entre ellas y la superficie.

Otra diferencia que indica notables divergencias en la vida invisible del aire patentizaron los experimentos con esos tubos. El líquido turbio de los dos tubos coronados de moho era incoloro, teniendo apenas un tinte gris, y el otro, el del medio, contenia un pigmento amarillo verde brillante, sin que se viera en su superficie el menor rastro de moho. Nunca se aclaró, sino que su turbidez persistió, manteniendo su vida bacterial durante meses enteros y cuando habia cesado ya en los otros tubos. Mas no puede haber la menor duda de que tambien cayeran en ese tubo esporos de moho, pero en la lucha por la existencia las bacterias colorantes vencieron á dichos esporos. Otros seis tubos expuestos de semejante manera dieron origen á un lodo gris, cubriéndose todos prodigiosamente de moho, bajo el cual las bacterias, muriendo, ó pasando al estado de reposo, cayeron en el fondo dejando flotar el líquido claro.

Hasta el 31 de octubre siguió sin alterarse la pureza de los seis tubos protegidos.

Hízose entonces un experimento complementario. Faltaba demostrar que dichas infusiones claras sometidas á prolongado reposo, no habian sufrido cambios susceptibles de suspender su aptitud para desarrollarse y mantener la vida. De consiguiente, el 13 de octubre el tablero de detrás de una de las cámaras se quitó de su lugar, y con tres pipetas nuevas se tomó una muestra de cada uno de los tres tubos. El más concienzudo exámen no reveló el menor indicio de vida. Dejando entonces penetrar el aire del laboratorio en la cámara, se demostró que al dia siguiente el rayo luminoso dejaba ver la presencia de materias en suspension.

El exceso de tales materias era, por lo tanto, la sola condicion de que se produjese la vida, pues el dia 17 todos los tubos estaban sucios y pululaban de bacterias.

Un experimento que se hizo despues de-

(1) Moho ordinario.

mostró algunos de los lazos tendidos al observador. La cámara que hemos indicado contener seis tubos llenos de una infusion de nabo, conservó esta infusion clara por espacio de un mes. El 21 de octubre se abrió la puerta posterior de la cámara y sacáronse muestras para examinarlas con el microscopio. El primer tubo que observé no ofrecia la menor señal de vida, conforme esperaba. Con otra pipeta saqué una muestra del segundo tubo, y con grande asombro ví que el desarrollo de la vida en él era monstruoso. Contenia numerosos organismos globulares que ejecutaban movimientos rotatorios de extraordinaria agilidad, así como un enjambre innumerable de bacterias que iban y venian en todos sentidos.

Un observador formal que saque sus consecuencias con calma no debe inmediatamente abandonarlas; y en tal caso necesitaba algun tiempo para convencerme de si se habia cometido algun error. Mas no encontré nada, y estaba próximo á admitir la conclusion de que en la infusion hervida habia la vida aparecido á despecho de su claridad. ¿Pero por qué en la infusion de nabo protegida, que examiné el 13 de octubre, no se habia visto el menor rastro de vida? En tal caso la transparencia perfecta iba acompañada de la falta absoluta de bacterias. La misma accion sobre la luz que permite á estos pequeños séres mostrarse á la vista del microscopio, debe en realidad ser la que produce la turbidez. ¿Por qué, pues, la vida habia de estar ausente del primero de los tres tubos? Examiné nuevamente este tubo y encontré débiles pero indudables signos de vida, lo cual aumentó mi perplejidad. Otro tubo ostentaba igualmente los mismos vestigios. Volví á observar el segundo, ó sea aquel en que habia sido tan abundante la vida, y noté que en su interior los organismos se habian vuelto tan raros como en los demás. Dirigíme entonces á los tres tubos de la primera série, comprobándolos varias veces, y algunas encontré aquí y allá una bacteria y otras veces no encontré nada. Imposible fué ya contemplar la primera y lujuriante exhibicion de vida. Dudando de mi habilidad como micrógrafo, tomé muestras de tres tubos y las envié al profesor Huxley rogándole que tuviese la bondad de examinarlas.

El dia 22 extendí la observacion á la totalidad de los tubos y ví al principio bacterias vivas en uno de ellos; pero más tarde ninguno de los seis tubos presentaba rastro de vida, á pesar del estudio más minucioso. En la tarde del mismo dia 22 recibí una nota del profesor Huxley, quien me decia que un exámen cuidadoso de las muestras que le habia enviado, no le habian revelado ninguna señal de vida.

Las pipetas empleadas para sacar la infusion de los tubos de ensayo eran fragmentos de tubos de cristal, cuyo diámetro era muy corto, los cuales habian sido aguzados por un extremo y estaban provistos por el otro de un pequeño tubo de cauchú que nunca se les quitaba. Esta última materia se vió que era muy cómoda para permitir replegar las pipetas, de manera que pudiesen introducirse hasta el fondo de los tubos de ensayo. Pronto recayeron mis sospechas en el cauchú. Lo lavé y sometí el agua del lavado al exámen microscópico, pero esto á nada me condujo. Tambien habia empleado agua destilada para limpiar las pipetas, y el dia 23 por la mañana entré en el laboratorio con la firme intencion de examinarlo; pero antes de sumergir la pipeta en el agua fijé la vista en la punta, en la cual habia quedado una gotita muy menuda por efecto de la capilaridad. La soplé sobre una plancha y me puse á examinarla con el microscopio. Una asombrosa manifestacion de vida me recompensó de esta observacion; y puesto ya en esta senda, examiné todas las pipetas, dos de las cuales encontré todavia con sus gotas residuales en la punta; ambas á dos ofrecieron un campo lleno de vida. Las bacterias se movian allí, yendo y viniendo en todos sentidos, retorciéndose y ejecutando rotaciones en extremo rápidas. Igualmente galopaban por el campo del microscopio varias mónadas. La exhibicion de vida que logré ver en esas gotitas de líquido no podia distinguirse de la que tanto me asombrara el dia 21. Evidentemente el fenómeno á la sazon observado provenia de emplear una pipeta sucia; y era igualmente obvio que en investigaciones de esa índole se

expone el observador á los más crasos errores por poco que se descuide.

La cámara de que me serví habia sido abierta con el fin de probar la aptitud de las infusiones situadas en su interior para desarrollar y mantener la vida. *Durante cuatro semanas habianse conservado perfectamente claras.* Pero dos dias después de abrir la puerta y entrar el aire del laboratorio, los seis tubos estaban turbios y pululando de bacterias en todos sentidos. Algunas de éstas eran muy largas y sus movimientos por extremo notables.

Limpióse cuidadosamente de nuevo la misma cámara, cerrándola y dejándola en reposo hasta que hubiesen desaparecido las materias en suspension. El 17 de noviembre se introdujo una infusion reciente de nabo por medio de la pipeta y se la sometió á la ebullicion en un baño de aceite, en seguida de lo cual fué abandonada al aire de la cámara, y *despues de seis meses la infusion estaba tan clara en los seis tubos como el dia de su introduccion.*

Otros seis tubos expuestos que se llenaron de la misma manera se enturbiaron en pocos dias cubriéndose gradualmente con una densa capa de *penicillium.*

§ 8

Infusion de heno.

Se ha concedido á esa infusion un poder de generacion espontánea semejante al que algunos atribuyen á la decoccion de nabo. Menudamente picado el heno se puso á digerir durante cuatro horas en agua mantenida á una temperatura de 120° F.

El dia 24 de setiembre se introdujo la infusion en su cámara, donde se hizo hervir durante cinco minutos. Llenáronse de líquido seis tubos protegidos, mientras que otros seis tubos cargados con la misma infusion se colocaron en un soporte fuera de la cámara.

El 27 seguian siendo claros los tubos interiores y se habian los exteriores enturbiado un poco. Al 28 aparecieron manchas de moho en todas las superficies expuestas. La infusion de uno de los tubos exteriores se habia desleido con agua destilada, y en este fué mucho más rápido que en los otros cinco el desarrollo de la vida, si bien todos contenian bacterias el expresado dia.

El 29 observé un organismo mayor que se movia rápidamente á través del campo del microscopio. La gota que lo contenia, habia sido tomada en la infusion desleida. El 30 se vieron agitar varias mónadas de esta clase entre las bacterias más pequeñas, pareciendo brillantes ú oscuras, segun se elevasen ó bajasen en el líquido, una gota del cual era para ellas todo un Océano. El 2 de octubre se notaron ya enjambres de bacterias; y sus movimientos de traslacion eran tan rápidos, tan variados y aparentemente tan dirigidos á un fin, que era difícil creer que pudiesen ser otra cosa que animales. El 15 se notó una asombrosa aparicion de infusorios más grandes, que parecian haber arrojado de allí las bacterias, puesto que se veian muy pocas. La imposibilidad en que me hallé de encontrar esos organismos mayores en número semejante, me indujo á deducir que habia tropezado por accidente con una de sus colonias. El ya descrito experimento de las pipetas sucias, indicaba no obstante otro orígen.

Al paso que bastaron tres dias para corromper la pureza y llenar de bacterias los seis tubos expuestos, *siguieron los seis protegidos más de tres meses tan claros y sanos, como el dia en que se les echó la infusion*, no dejando el menor vestigio de moho en la superficie de ninguno de ellos, ni el menor rastro de turbidez en la masa líquida.

En otra cámara que contenia tres tubos de ensayo, se metió una infusion muy abundante de heno el dia 1.° de octubre. Se hizo hervir durante cinco minutos y se abandonó al

aire de la cámara. Tres tubos semejantes colocados en un soporte quedaron expuestos al aire del laboratorio. El color de la infusion era muy oscuro si bien transparente por completo. La solucion de uno de los tubos exteriores fué diluida con agua destilada; y aquel mismo dia se enturbió la infusion de este tubo cuando los otros expuestos permanecian claros. Luego, la materia germinativa invisible, habia invadido de un modo cualquiera el agua destilada, haciéndola infectante. La infusion desleida contenia enjambres de bacterias muchas de las cuales estaban inmóviles, mientras que otras tantas se movian rápidamente. El 4 de octubre hormigueaban bacterias en todos los tubos; y continuaron estando turbios hasta mediados de noviembre, época en que los utilicé para hacer experimentos sobre la infeccion.

Durante ese tiempo siguieron sin alterarse todos los tubos protegidos.

Por lo que toca á la infeccion, puede consignarse aquí que la menor mancha de infusion vegetal que contenga bacterias infecta todas las infusiones animales y viceversa, con sólo estallar una ampolla de infusion virulenta, puede una de sus proyecciones atacar otra infusion sana; y es indudable que la envoltura y no el gas de la ampolla produce semejante resultado.

Otros experimentos hechos en 1875 sobre infusiones ácidas, neutras y alcalinas de heno, colocadas en contacto con el aire purificado de diversas maneras, dieron el mismo resultado negativo.

§ 9

Infusion de sollo.

Hecho pedazos el pescado, púsose á digerir durante tres horas en el agua, mantenida á 120° J. El dia 17 de noviembre introdújose la solucion en una cámara que contenia tres tubos de ensayo, y se coció por espacio de cinco minutos. Otros tres tubos suspendidos fuera de la cámara quedaron expuestos al aire ordinario del laboratorio.

Los tres tubos expuestos se vieron ténuemente nebulosos el dia 19, y el 22 estaban completamente turbios. Allá y acullá aparecieron entonces en dos de ellos varias manchas de *penicillium*, mientras que el tubo restante, el de en medio, se conservaba intacto. Este tubo central contenia la forma pigmentada de bacterias que tan á menudo ha manifestado un especial poder de resistencia á todo enmohecimiento. Durante cerca de dos meses logró estar libre de moho, al paso que sus dos vecinos estaban cubiertos de una espesa capa de *penicillium*.

Durante todo ese tiempo, la infusion protegida, siguió siendo tan clara é incolora como el agua destilada.

§ 10

Infusión de hígado.

El dia 10 de noviembre preparóse la infusion por medio de la digestion tantas veces descrita; introdújose el líquido en una cámara que contenia tres tubos protegidos, é hirvió por espacio de cinco minutos en una solucion salina. Al propio tiempo tres tubos que contenian la misma infusion, estaban suspendidos al exterior de la cámara y expuestos al aire comun. El dia 13 se vieron numerosas bacterias en los tubos expuestos, y muy pron-

to los tres se volvieron notoriamente sucios y pútridos, cualidades que conservaron por espacio de varios meses.

Los tubos protegidos, en cambio, conservaron durante todo ese tiempo el aspecto de un líquido amarillo brillante, tan transparente y límpido como lo estaba el dia de su introduccion en la cámara.

§ 11

Infusiones de liebre, conejo, faisan y pollo.

Atendido el número considerable de cajas empleadas, y con el fin de economizar, modificóse ulteriormente la forma de las cámaras. Quitóse la parte abovedada de una campana grande de cristal, de manera que estuviese convertida en un cilindro abierto por sus dos extremos, y se colocó este aparato verticalmente en un soporte de madera, afianzándolo bien por abajo. A través del soporte pasaban tres grandes tubos de ensayo sujetos de una manera impermeable. En la parte alta del cilindro, se habia soldado un plato de madera, atravesado por una pipeta clavada de antemano en un tapon de caouchú, y luego en una capa de nata humedecida con glicerina (1). El aire interior de la campana, hecha cilindro, se hallaba en conexion con la atmósfera por medio de tubos replegados abiertos, y conforme hemos descrito ya. En los primeros experimentos practicados con estas cámaras, se revelaron diferentes defectos de construccion durante la ebullicion de las infusiones. Pero, poco á poco, se logró tenerlas tan *seguras* como las cajas de madera. Habiendo dejado de efectuarse la separacion de las materias en suspension, introdujéronse, el dia 30 de noviembre en cuatro aparatos de esa especie, infusiones de liebre, de conejo, de faisan y de pollo. Estas infusiones se hicieron hervir como de costumbre, y se dejaron en la cámara. En el exterior estaban suspendidos tres tubos de ensayo de igual tamaño y conteniendo idéntica infusion que los de dentro.

Examináronse los cilindros el dia de Navidad y los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Faisan.—Los tres tubos interiores perfectamente límpidos; los tres expuestos, turbios y cubiertos de *penicillium*.

Pollo.--En iguales condiciones que el faisan.

Liebre.—Como los anteriores.

Conejo.—Los tres tubos interiores, cubiertos de matas muy hermosas de *penicillium*, alguna de las cuales se hundia mucho en el líquido; y además, en dos de ellos el *mycelium* florecia por debajo.

Todos los tubos exteriores estaban turbios como siempre y cubiertos de moho.

¿Queria esto decir que nos encontrábamos por fin, con un caso de generacion espontánea? Sin prueba ulterior, ningun observador concienzudo podia sacar tal consecuencia. En oposicion á este caso aislado, se levantan todos los experimentos que hemos mencionado hasta aquí; y su efecto directo sobre el ánimo, está en reclamar el exámen más escrupuloso antes de admitir esta excepcion como regla. Procediendo de este modo, Tyndall, que fué el experimentador de esos casos, procedió á observar las cuatro campanas y en la que contenia la infusion de conejo, notó que era la única que habia cedido al calor de la ebullicion. Conforme se ha indicado, esta campana, al afianzarla por abajo, se habia empleado el yeso y el cimiento, que se volvieron tan quebradizos durante la ebullicion, que el vapor pudo escaparse por sus hendiduras. De ese modo todo se explica, porque las grietas al permitir la salida del vapor, probaban ser igualmente suficientes para ocasionar entradas de aire, á cuya presencia se

(1) En los primeros experimentos, la goma formaba el fondo de esta capa. Mas, como á veces se desprendian partículas á causa del movimiento de la pipeta, se emplearon la nata y el caouchú, para subsanar tales inconvenientes.

debian, sin duda alguna, las matas de *penicillium*.

Sin embargo, no bastaba esa simple induccion, y era preciso reiterar la prueba para tener una seguridad. Hízose un nuevo ensayo con la infusion de conejo, colocando tres tubos nuevamente llenos con infusion reciente de la misma clase, que se metió en una de las cajas antes descritas. Esta infusion se introdujo y coció, el 3 de enero de 1876; al paso que, otros tres tubos llenos de idéntico líquido, se dejaron expuestos el mismo dia, al aire del laboratorio. Los tres tubos protegidos, permanecieron claros durante tres meses; los tubos expuestos, se cargaron de bacterias á los pocos dias.

§ 12

Infusiones de salmon, de lúpulo, té y café.

La materia colorante de la carne de salmon no afecta en modo alguno á su infusion; verdaderamente nunca se ha visto un ejemplo mejor de la falta primordial de todo color ú opalescencia, así como de la persistencia de esas condiciones por efecto del contacto con el aire privado de partículas. Introdújose la infusion de salmon el 13 de diciembre, en una cámara cilíndrica, donde siguió ostentando por espacio de meses enteros, la brillante transparencia que tenia al principio. A la vez otros tres tubos expuestos, de la misma sustancia, se volvieron turbios, cubriéndose de moho en pocos dias.

Un tubo de infusion de lúpulo se puso simplemente dentro de un cristal de lámpara tapado y cimentado herméticamente por ambos extremos. A través del tapon inferior pasaba el tubo de ensayos con toda perfeccion; mientras que á través del extremo superior estaban encajados la pipeta y los tubos replegados destinados á poner en comunicacion el aire interior con la atmósfara. Preparóse la infusion é introdújose el 28 de octubre. En pocos dias el tubo exterior se puso turbio y cubierto de moho, á la vez que el tubo protegido permaneció claro durante muchos meses.

Protegidas cada una por un tubo de lámpara semejante al que acabamos de indicar, una infusion de té y otra de café en su respectivo tubo de ensayos, dejáronse preparadas el mismo dia 28 de octubre, al tiempo que otros tubos llenos de iguales sustancias, se dejaban suspendidos cerca de aquellos.

El té protegido se mantuvo claro, mientras que el expuesto se enturbió cubriéndose de moho. Al propio tiempo los tubos de café todos, tanto los protegidos como los expuestos, se enturbiaron y se cubrieron de *penicillium*.

Aquí pueden aplicarse las mismas observaciones que hemos hecho por lo tocante á la infusion de conejo. Tampoco este caso es apropósito para sostener la flaca teoria de la generacion espontánea, sino que sugiere, por lo contrario, distinto órden de consideraciones apoyadas en el exámen. Observóse atentamente el estado del aparato; y la pipeta utilizada para introducir el café (la única entre las tres empleadas en estos experimentos) descansaba en el borde interior del tubo que contenia la infusion. Esta, evaporada en parte, se habia condensado nuevamente y se habia corrido á lo largo de la pipeta, de modo que formaba una pequeña gota en el punto de contacto con dicho tubo. Aquella gota habia lavado en cierto modo la superficie externa de la pipeta, arrastrando consigo las materias que podian estarle adheridas. Un poco de esta agua de condensacion que llegaba hasta la infusion, habia sido óbviamente el orígen de la vida observada. No obstante, el testimonio más seguro consistia en la repeticion del experimento en las condiciones que excluyesen dicha causa de error. Por consiguiente, se prepararon el 27 de diciembre, dos tubos protegidos por cristales ó tubos de

lámpara, y otros dos tubos llenos de infusion se dejaron expuestos al aire ordinario. Los primeros siguieron estando claros por espacio de varios meses; y los últimos se volvieron turbios y se cubrieron de *penicillium* en pocos dias.

§ 13

Infusiones de bacalao, rodaballo, arenque y mujol.

Con el objeto de establecer un paralelo entre los experimentos hechos en el aire desprovisto de partículas y el aire ordinario, con los practicados en tubos herméticamente cerrados que más adelante describiremos, añadiremos á las sustancias ya citadas, las de los pescados inscritos á la cabeza de este párrafo.

Introdújose el mujol en su correspondiente cámara el dia 3 de enero. Esta caja, por efecto del calor del laboratorio, se habia agrietado, pasando así el agua de condensacion por las grietas lentamente hasta el fondo. Las otras cajas se repararon tan perfectamente como era posible, y las infusiones fueron introducidas en su interior el dia 4 de enero, provista cada una de tres tubos expuestos para la comparacion con los tres protegidos. A la mañana del 6 la infusion de rodaballo expuesta, se mantenia clara en todos los tubos; algunas horas despues empezaron á presentarse turbios dos de los tres; y el dia 7 los habian invadido completamente las bacterias. Todos los tubos de infusion de bacalao que no se hallaban protegidos, se pusieron nebulosos el dia 6, turbios el 7 y cubiertos de una capa jabonosa el 8. Los tres tubos de arenque expuestos se volvieron igualmente nebulosos el dia 6, convirtiéndose esta nebulosidad en completa turbulencia al cabo de poco. El mujol dió orígen á los mismos fenómenos.

En cambio por espacio de más de tres meses los tubos protegidos, inclusos los que estaban en la cámara imperfectamente cerrada y que contenia la infusion de mujol, siguieron tan claros como lo estaban el dia de su introduccion.

A estas infusiones de pescados debemos agregar otras dos de anguila y ostra. Dos tubos de cada una de ellas, protegidos por tubos de lámpara se llenaron el dia 29 de diciembre y se colocaron en su aparato, conservándose sin la menor alteracion. Otros dos pares de tubos preparados de la misma manera, pero expuestos al aire del laboratorio, se enturbiaron á los pocos dias y se cubrieron de *penicillium*.

§ 14

Infusion de gallina y de riñones.

El dia 4 de enero se colocaron tres tubos de infusion de gallina en una cámara, haciéndola hervir durante cinco minutos. Tres tubos semejantes fueron á la par expuestos al aire. El dia 6 todos los tubos exteriores estaban nebulosos, haciéndose cada vez más densa la nebulosidad mientras que se iban formando discos de *penicillium* en las superficies expuestas.

Por lo tocante á la infusion de riñones costó mucho trabajo obtener una infusion clara; pues el líquido, despues de pasar por una docena de filtros, aun estaba sucio. Mas, despues de un trabajo considerable y merced al

empleo de doscientos filtros, logróse separarle las materias sostenidas mecánicamente en suspension. La infusion clara así obtenida se introdujo el dia 4 de enero en su cámara, á la cual se suspendieron exteriormente otros tres tubos de la misma sustancia clarificada. El dia 7 se veian marcadamente nebulosos estos tubos y el 8 ofrecian ya cierta turbidez, mientras que se ponian en todos algunas manchas de moho. Por lo contrario, los tubos protejidos se mantuvieron con inmaculada transparencia por espacio de muchos meses (1).

Muchos otros experimentos podrian citarse, todos los cuales han dado análogos resultados á los que llevamos descritos. Podria añadirse la pescadilla á los de pescado, y el cerdo á los de carne examinados, mientras que otras sustancias han sido empleadas mayor número de veces de las que se ha creido conveniente consignar aquí. Tyndall, que es el autor de casi todos los experimentos que hemos expuesto, añade: «Tambien varié el método de ebullicion de diversas maneras, lo cual seria prolijo enumerar, si bien una de estas reclama una reseña, aunque sea ligera.»

§ 15

Ebullicion por un manantial interno de calor.

Colocáronse dos grandes tubos de ensayo de una manera muy ajustada en el interior de una misma cámara. El dia 8 de noviembre de 1876, despues de separar las materias en suspension, se introdujeron en ellos infusiones de heno y de nabo. Dos alambres de cobre estañado penetraban profundamente en cada una de las infusiones. Estaban reunidos los alambres por debajo con una espiral de platino, y por otra parte puestos en conexion con una bateria voltaica exterior. Hízose pasar la corriente eléctrica; y despues de algun tiempo comenzó la ebullicion manteniéndola por término de cinco minutos para cada tubo. Otros dos que encerraban la misma infusion se pusieron á hervir de la misma manera, suspendiéndolos en seguida al exterior de la cámara que encerraba los dos tubos protegidos.

En otra caja se colocaron dos tubos cargados de infusiones de carne de vaca y de carnero. La disposicion del aparato y la marcha de la operacion fueron las mismas que las descritas para el heno y el nabo.

Examinados algunos meses despues los tubos expuestos de las cuatro infusiones se encontraron turbios y cubiertos de *penicillium*, en tanto que los cuatro tubos protegidos permanecian sin alteracion alguna. Durante la ebullicion se desprendieron por sí mismos algunos pequeños copos de la superficie estañada de los alambres; pero en los tubos protegidos cayeron en el fondo dejando el liquido claro por encima. Sin duda habrian sido mejores unos alambres de platino.

§ 16

Discusion parcial de los resultados.

Así, por medio de experimentos reiterados un gran número de veces con orin, carne de carnero, vaca, cerdo, con heno, nabo, té, café, lúpulo, gado, sollo, salmon, bacalao, ro-

(1) El Dr. Bastian cita las infusiones de riñones como una de las sustancias con las que la realidad de la generacion espontánea podria ser perfectamente demostrada. Pero no hace mencion de la turbulencia extraordinaria que tantas molestias ocasionó al Dr. Tyndall antes de hacerla desaparecer.

daballo, arenque, anguilas, ostras, pescadilla, hígado, riñones, liebre, conejo, pollo, faisan, gallina, ha podido sentarse el poder que el aire atmosférico tiene para desarrollar la vida bactérica, y que su poder de dispersar la luz corre parejas con el anterior. Examinemos ante todo lo que esto significa.

Con frecuencia se ha insistido en la necesidad de emplear fuertes infusiones para poder realizar fenómenos de la generacion espontánea. Recordemos, tocante al particular, lo que hemos hecho observar en las páginas precedentes, á saber: que las infusiones utilizadas eran muy concentradas en su orígen, y que además se les permitia evaporarse con extrema lentitud hasta que su grado de concentracion fuese tres ó cuatro veces mayor que al empezar. Convirtióse así cada experimento en un número indefinido de experimentos sobre infusiones de fuerza diferente. Jamás las condiciones relativas á la concentracion se llenaron más cumplidamente ni la respuesta del experimento á la naturaleza se definió más clara y satisfactoriamente.

Por otra parte, las temperaturas á que fueron sometidas las soluciones, abarcan todas las que están indicadas hasta aquí como efectivas y se extienden mucho más en ambas direcciones (1). Varían desde el límite inferior de 50° hasta el límite superior de más de 100° F. Y hasta se aplicaron temperaturas más elevadas en otros experimentos que describiremos más adelante. Con respecto al número de infusiones, debe decirse que se emplearon más de cincuenta cámaras, cuyo aire estaba desprovisto de partículas, con su sistema de tubos cada una. No hay la menor sombra de duda en todos los resultados. En todos los casos explicados habia en el interior de la cámara limpieza y buen olor perfectos; en el exterior putrefaccion y el hedor característico. En ninguna circunstancia puede presumirse que una infusion privada, por efecto del calor, de la vida que le es propia, y colocada luego en contacto con el aire purificado tenga un poder cualquiera para engendrar nuevamente la vida.

Si se preguntase que seguridad se tenia de que los tubos protegidos no contenian bacterias, se podria responder que con la más minuciosa observacion microscópica, no se pudo ver ninguna en todos los experimentos que hemos mencionado; y aun más enérgicamente podria afirmarse que no habia ninguna, puesto que los rayos eléctricos ó los solares, son en tales circunstancias medios de investigacion mucho más poderosos y decisivos que el microscopio. En las páginas anteriores hemos descrito más de una vez la claridad de las infusiones protegidas despues de varios meses de exposicion, claridad igual cuando menos á la del agua destilada; y esto no es una exageracion, pues Tyndall no ha visto nunca agua destilada tan límpida, como sus infusiones protegidas.

Cuando por espacio de varios meses un líquido transparente desafia el exámen del rayo luminoso, manteniéndose libre de toda mancha susceptible de dispersar la luz, como lo hacen las bacterias, y cuando por otra parte una infusion contigua, preparada precisamente del mismo modo, si bien expuesta al aire ordinario, se vuelve al principio opalescente, luego turbio y acaba, en fin, por interrumpir el rayo luminoso con una dispersion irregular, puede sentarse la consecuencia de que las bacterias están en realidad tan presentes en la una como faltan en la otra.

Para la exacta interpretacion de los hechos científicos, se necesita algo más que el rigor de la observacion, puesto que una vista muy penetrante es muy compatible con un juicio erróneo ó un escaso discernimiento. Por esta razon hemos tenido el cuidado de hacer examinar todas las infusiones por biologistas expertos no solamente en todas las dificultades del microscopio, sino tambien versados de igual modo en todos los métodos del raciocinio científico. Su conclusion uniforme, es que seguramente menguaria la fuerza de demostracion de nuestros experimentos el tener que apelar al microscopio para confirmarlos.

(1) Véase el *Proc.* of. Roy. Soc., tom. XXI, pág. 130, en el que la temperatura de 70° está indicada como favorable á la generacion expontánea.

§ 17

Partículas en suspension en el aire y en el agua.

Examinadas por medio de los rayos eléctrico ó solar, concentrados, las materias suspendidas en el aire se resuelven en:

1.° Partículas de suficiente tamaño para que sus movimientos individuales puedan apreciarse á simple vista.

2.° Partículas mucho más ténues, que no pueden distinguirse de los átomos, y entre las cuales se mueven las anteriores como en su medio ambiente.

Bajo el punto de vista de la produccion de los colores, Brucke estudió la accion de estas pequeñas partículas en su memoria *sobre los colores de los ambientes turbios*. El trabajo del profesor Stokes *sobre el cambio de refrangibilidad de la luz*, encierra algunas observaciones con respecto á sus relaciones con la polarizacion. Y por último, debemos llamar la atencion sobre las publicacions de Tyndall: *sobre algunas nuevas reacciones químicas de la luz; sobre el color azul del Cielo; y sobre la accion de los rayos de alta refrangibilidad, en las materias gaseosas.*

Sorel, lord Rayleigh y Bosanquet se han ocupado igualmente de tales investigaciones. Resumamos en pocas palabras el estado de la cuestion por lo que á dicho asunto se refiere.

Cuando se examina la huella de un haz paralelo que atraviesa el aire *ordinario,* con un prisma de Nicol, colocado en una direccion perpendicular al rayo, siendo vertical su diagonal mayor, una porcion de la luz procedente de las materias más ténues, se apaga por encontrarse polarizada. Por otra parte las partículas mayores que no polarizan la luz, iluminan con una intensidad tanto mayor, cuanto más oscuro es el medio ambiente en que se hallan sumergidas.

Las partículas individuales más ténues de las materias en suspension, están probablemente fuera del dominio del microscopio. Pero en todo caso puede demostrarse experimentalmente, que existen partículas que obran de una manera idéntica sobre la luz, y sin embargo, son ultra-microscópicas.

Hace poco tiempo, llenamos de agua destilada un vaso en forma de campana invertida, y mientras agitábamos vivamente su contenido, por medio de una varita de hierro, vertimos gota á gota una solucion de almáciga en el alcohol. La proporcion empleada fué menor que la indicada por Brucke, puesto que sólo era de 10 granos de goma por 1,000 de alcohol. Colocóse la campana en seguida sobre un bastidor-vidriera á la altura del ojo. La mezcla tenia un hermoso tinte azul, color procedente por completo de la luz dispersada por las partículas de la almáciga. Mirada horizontalmente á través de un prisma de Nicol, que tenia su diámetro menor vertical, la luz azul llegaba libremente á la vista. Volviendo entonces la gran diagonal vertical, quedó dispersa la luz, totalmente apagada, y el vaso parecia lleno de agua pura.

Ensayamos el efecto de un filtro poderoso sobre dichas partículas, y vimos que pasaban sensiblemente á través de cuarenta hojas del mejor papel (1).

A continuacion examinamos el líquido, y en su interior vimos las partículas mantenidas en suspension, con auxilio de un microscopio que aumentaba 1,200 diámetros. Desafiaron los lentes más poderosos, puesto que el medio en que nadaban, era tan uniforme como el agua destilada y pura.

La manera como actúan las materias en suspension en el aire, prueba que en parte están compuestas de sustancias de carácter excesivamente ténue. El rayo concentrado las revela colectivamente mucho tiempo despues de haber dejado de distinguirlas individualmente. Además, en su mayor parte son partículas orgánicas (á lo menos en las cámaras de Lóndres, únicas que Tyndall examinó),

(1) Hay, sin embargo, filtros que las detienen.

que pueden destruirse por efecto de la combustion. En presencia de tales hechos, carecen de valor los argumentos que se hagan contra la teoria de los gérmenes, fundándose en que están éstos fuera del dominio del microscopio.

Aquí nos encontramos en presencia de una cuestion de considerable importancia y que conviene aclarar. Háse hablado con desden de *gérmenes potenciales,* de *gérmenes hipotéticos* porque el microscopio no lograba ponerlos en evidencia. Pero escritores sagaces han sacado de sus experimentos la consecuencia perfectamente lógica de que pueden los gérmenes existir allí en donde el microscopio es impotente para revelarlos. Tales consecuencias, han sido consideradas para cierta gente como un puro trabajo de imaginacion, que no se apoyaba en ninguna base séria. Con todo, nosotros podemos utilizar un instrumento que en cierto modo aventaja muy mucho al microscopio: hablamos del rayo luminoso concentrado. Dirigiéndolo al medio ambiente, que rehusa darnos la menor indicacion con otro instrumento más tosco, vemos que este medio está sembrado de partículas, no ya hipotéticas ni potenciales, *sino verdaderas y en número infinito,* demostrando así al microscopio, que existe un mundo que se halla fuera de su alcance.

Hemos relatado en los párrafos 6 y 8 los experimentos sobre la infeccion de infusiones claras con otras que contenian bacterias visibles. Mas para que la infeccion sea segura no es necesario que sean visibles las bacterias. Hemos repetido muchísimas veces los experimentos del Dr. Sanderson sobre el poder infectante del agua destilada ordinaria, en la cual seria imposible hacer constar con auxilio del microscopio, la existencia de una sola bacteria. Y sin embargo, el agua proporcionada al laboratorio de la Institucion Real por los Sres. Hopkins y Williams, fué sensiblemente tan infecciosa como una infusion pululante de bacterias. Los vasos, en tal caso, son el orígen de la infeccion.

El experimento más sério que quizá se haya hecho sobre esta materia fué el practicado por dicho Dr. Burdon Sanderson, en el agua que habíamos preparado. Propúseme en 1871 hallar el medio de privar completamente al agua de partículas en suspension: lo obtuve á diversos grados de pureza, pero nunca enteramente puro. Conociendo el maravilloso poder que tiene el agua de rechazar las materias extrañas en el fenómeno de la cristalizacion, ocurrióme la idea de examinar el líquido resultante de la fusion de hielo transparente por completo. A peticion mia el preparador me dispuso el aparato representado por la fig. 3.

A través de la tabla de una bomba de aire, pasaba ajustado el cuello de un gran embudo, al cual se agregó despues, por abajo, un globito de cristal. Antes de unir esas dos piezas y dejar listo elaparato se habian limpiado escrupulosamente todas las partes del mismo. Colocóse en el embudo una masa de hielo I, escogido por su transparencia, que media un volúmen de 1,000 pulgadas cúbicas aproximadamente. Encima del hielo se colocó un recipiente que ajustase con la tabla y en su interior se renovó el aire varias veces, ocupando cada vez su puesto, otra masa de aire filtrado cuidadosamente á través de la uata. El hielo transparente se encontraba así rodeado de aire privado de partículas. Procuróse á la sazon la manera de derretirlo, y el agua de la fusion cayó debajo, en el globito de cristal que de ese modo fué llenándose y vaciándose repetidas veces.

Tomé agua procedente del corazon de la masa de hielo y la sometí á la accion del rayo concentrado. Era el líquido más puro que hubiese visto hasta entonces, y probablemente el más puro que haya contemplado la vista humana. Sin embargo, contenia miriadas de partículas ultra-microscópicas. La huella del rayo luminoso que la atravesaba era de color azul delicadísimo, siendo la luz azul perfectamente polarizada. Pudo apagarse totalmente con el prisma de Nicol, por pasar entonces el rayo á través del líquido, como por el vacío.

Una comparacion de esta luz con la proporcionada por la almáciga, de que hemos hablado poco há, demostró que las partículas del hielo eran mucho más pequeñas. Por consiguiente, ningun microscopio hubiera podido descubrirlas. Y no obstante, el Dr. B. Sanderson probó que dicha agua era tan infecciosa como la de una tinaja ordinaria.

Aun cuando sean infinitesimales dichas partículas, pueden separarse del líquido en el cual se hallen en suspension, merced al auxilio de medios mecánicos.

Filtros de tierra porosa, tales como los vasos de una pila de Bunsen, fueron empleados con buen éxito en las investigaciones del doctor Zahn, del profesor Klebs y del Dr. Burdon Sanderson. Además, se ha probado en numerosas circunstancias que por lo que atañe á la infeccion de los animales vivientes, las vasijas porosas interceptan el contagio. Al animal viviente, puede sustituirse una infusion orgánica ó la solucion Pasteur. No solamente entonces el agua de hielo, la destilada y la comun, están privadas de su poder de infeccion, sino que, además, al sumergir el vaso poroso en una infeccion en que pulule la vida bactérica, sacándolo luego y dejándolo escurrir lentamente por medio de la presion atmosférica, el líquido filtrado se halla exento á la vez de sus propias bacterias y de los gérmenes ultra-microscópicos que mantiene en suspension. Las partículas de almáciga anteriormente descritas, que pasaban á través de un número infinito de papeles filtradores quedan igualmente interceptadas por el vaso poroso.

Esas materias germinativas abundan en todos los estanques, corrientes y rios, así como en todas las partes de tierra húmeda. Además, toda superficie mojada que ha sido secada por el sol ó por el aire, contiene encima las partículas que el líquido evaporado tenia en suspension. Arrastradas por el viento lejos del lugar de su orígen, se desparraman por la atmósfera, y así se explica su universal distribucion. Indudablemente, á veces se adhieren á otras partículas más toscas, orgánicas ó inorgánicas, que á la larga dejan detrás de ellas. Pero no son necesarios tales soportes para acarrearlas, puesto que por sí solas están dotadas de la facultad de flotar en proporcion de su extrema pequeñez y de la ligereza específica de la materia que las compone.

No quiere esto decir en modo alguno, que las bacterias desarrolladas, que para su nutricion necesitan algo más que lo que el agua ordinaria suele estar en disposicion de darles, dejen de poder ser arrastradas á través de la atmósfera. Puede haber casos favorables de crecimiento y dispersion de los organismos adultos. Si despues de la desecacion conservan el poder de reproducirse, es otra cuestion muy distinta. En todo caso, debemos tener siempre presente que las bacterias completas y las materias atmosféricas de que se derivan son cosas muy diferentes. Se han buscado cuidadosamente bacterias en el aire y nunca se han encontrado hasta ahora, por más que algunos, sin poder probarlo, crean lo contrario. Pero que toman nacimiento de materias que todavia no han asumido esta forma, puede demostrarse, conforme se ha demostrado ya. Una infusion orgánica cocida y puesta al abrigo de las partículas atmosféricas, quedará clara durante un tiempo indefinido, mientras que un fragmento de vidrio que se haya expuesto al aire, y en el que hayan podido reconocerse vestigios de bacterias, desarrollará en dos ó tres dias una vida lujuriante en la infusion.

Debemos ahora ocuparnos algo más íntimamente, de esas partículas extrañas á la atmósfera, pero que flotan en ella, y que, como lo han revelado los experimentos, deben considerarse como el orígen de toda vida bactérica. Tambien tendremos que examinarlas como existentes en el agua, donde se encuentran en multitud innumerable, y á la cual son igualmente tan extrañas como el polvo al aire. Por otra parte, su existencia no es dudosa, pues podria decirse que son tan sensibles como si las tocáramos con nuestros dedos, ó las viésemos á simple vista. Supongamos que aumentan de volúmen, no sólo de manera que puedan encontrarse bajo el dominio del microscopio, sino tambien de nuestros sentidos. No habríamos adelantado gran cosa, pues no conoceríamos si son gérmenes, partículas de materias orgánicas muertas, ó polvos de diversos minerales. Pero tomemos un vaso lleno de tierra laborable, una maceta, por ejemplo, y mezclemos esta tierra con esas partículas desconocidas. Cuarenta y ocho horas despues, aparecerán encima de ella matas y hojas de plantas ó hierbas muy definidas.

Supongamos luego que el experimento repetido cien veces, nos dá siempre idéntico

resultado. ¿Qué deduciremos? ¿miraremos las plantas vivas como el producto de polvos muertos, ó como el producto de polvos minerales, ó los consideraremos como embriones de simientes vivas? No es dudosa la respuesta: conceptuamos el experimento de la maceta como aclaratoria de nuestra ignorancia anterior. Miramos el fenómeno de la produccion de las plantas ó de las hierbas, como la prueba positiva de que las partículas sembradas, eran en realidad semillas de las plantas que han nacido. Seria sencillamente monstruoso deducir que han nacido por *generacion espontánea*.

El mismo razonamiento se aplica, palabra por palabra, al desarrollo de las bacterias á expensas de los polvos que el aire tiene en suspension; faltando los cuales, la vida bacterial no puede ser engendrada. Esto es lo perfectamente lógico; y por ello es imposible comprender cómo la nocion de que las bacterias traen su orígen de polvos muertos mejor que de elementos vivos, tenga todavia por propagandistas la mayor parte de los miembros del cuerpo médico.

Se ha dicho de aquellos á quienes las pruebas en favor de la generacion espontánea no podian convencer, que parecian creer con preferencia en toda infraccion de las leyes naturales antes que admitir la doctrina. Pero á nosotros nos parece lo contrario. Las leyes naturales son el producto y tesoro de la experiencia. Ahora bien, no hay ni el asomo de un experimento capaz de demostrar que el polvo muerto y no la simiente viva, sea el orígen de la multitud que nace en las infusiones cuando están impregnadas de las partículas que flotan en la atmósfera.

§ 18

Experimentos recientes sobre la heterogénesis.

La esterilidad uniforme de las infusiones cocidas cuando están á cubierto de las materias que el aire tiene en suspension, esterilidad que hemos demostrado en las páginas anteriores, prueba que tales infusiones no contienen gérmenes capaces de engendrar la vida. Nuestra heterogénesis más avanzada afirma, en realidad, que una temperatura de 100° F. reduce en todos los casos los gérmenes al estado de muerte actual ó potencial, y se funda ingeniosamente en este principio para explicar con la generacion espontánea la aparicion de bacterias en una solucion elevada á 212°. «Sabemos, dicen los defensores de esta teoria, que las infusiones cocidas de nabo ó de heno, expuestas al aire ordinario, al aire filtrado, ó al aire calcinado, son más ó menos aptas para engendrar bacterias en un espacio de dos á seis dias (1).»

Desde un principio tropezamos aquí con una dificultad. La sola prueba que tenemos de la muerte de las bacterias á la temperatura de 140° F. consiste en que la vida no aparece en un líquido que se ha elevado á dicha temperatura, mientras que *en otro líquido,* la vida se manifiesta dos dias despues de haberlo calentado hasta 212°. En vez de deducir que en uno de ellos se ha destruido la vida y en el otro no, que seria lo lógico, se admite que la temperatura de 140° F. es la muerte para los dos, y por lo tanto, que la vida observada en la segunda solucion, es forzosamente un caso de generacion espontánea. Gran parte de los argumentos más convincentes del doctor Bastian, se apoyan en esta base, y v rias suposiciones de esta índole, le guian en sus experimentos más sérios. Dice, por ejemplo, que una solucion mineral no desarrolla bacterias cuando está expuesta al aire; y de ahí deduce, que una infusion orgánica puede abandonarse en las mismas condiciones, sin temor de que produzca infeccion. Llevando esa idea á la práctica, expone una infusion de

(1) *Evolution and the Origin of Life.*

nabo en la que pronto pululan bacterias *engendradas espontáneamente* segun la hipótesis anterior.

Pero aun suponiendo que todos los hechos relatados por el doctor Bastian, fuesen exactos, la deduccion lógica que deberia sacarse, seria muy diferente de la suya. En un ensayo ulterior quedará más claramente definida su argumentacion. Por de pronto, pasaremos al exámen de sus experimentos.

§ 19

Experimentos practicados con aire filtrado.

Una campana de cristal que contenia unas 700 pulgadas cúbicas de aire, se adaptó sólidamente á una tabla revestida de resina y sostenida por tres piés (1). A través de la tabla, pasaban con verdadero ajuste tres tubos (A, B, C, fig. 4) que antes de cimentar la campana, se habian llenado en sus tres cuartas partes, el uno con una infusion de heno, el otro, con una de nabo, y el otro, con una de carne. El dia 2 de noviembre, sacóse por medio de una bomba aspirante el aire cargado de partículas, reemplazándole con otro aire lentamente filtrado á través de un tubo provisto de uata fuertemente amontonada. Así se vació y rellenó la campana hasta que el exámen más escrupuloso por medio del rayo de luz concentrado, reveló que allí dentro no había ya partículas en suspension. Cociéronse entonces las infusiones durante 5 minutos, y luego se dejaron abandonadas al aire puro. Durante la ebullicion, una corta cantidad de líquido habia pasado por encima del borde de uno de los tubos á la superficie resinosa, y se hallaba próximo á la abertura de los otros dos. Cumple notar aquí, que nunca la materia germinativa está completamente exenta de una superficie tal, y que en este caso, particularmente, no habria podido quitarla una simple corriente de aire. Colocáronse cerca de los tubos protegidos, otros tres tubos que contenian respectivamente idénticas infusiones.

A los tres dias, los tubos expuestos, se vieron turbios y cargados de vida, *mientras que durante tres semanas, las infusiones que se hallaban en contacto con el aire filtrado, permanecieron perfectamente claras.*

Pasadas las tres semanas ó sea el 23 de noviembre, se mandó renovar el aire de la campana, extrayéndolo del interior, mientras que pasaba á dentro otro aire á través del filtro de uata, notándose algunas manchas redondas de *penicillium* que coronaban el líquido que habia pasado por encima de la resina. Comprendióse que el experimento se habia practicado mal, y en efecto, el aire que entraba tenia algunos esporos de *penicillium* y los esparcia por el interior de la campana. Por esa razon volvió á llenársela muy lentamente á fin de hacer la perturbacion mínima.

No obstante este cuidado, al dia siguiente se observó una mata de *mycelium* en el fondo de uno de los tres tubos, á saber, en el que contenia la infusion de heno. Aquella mata se agrandó luego lo bastante para ocupar una parte considerable del tubo. Durante unos tres meses los dos tubos que encerraban la infusion de nabo y la de carnero, mantuvieron su transparencia inmaculada. Por último, en diciembre la infusion de carne que estaba próxima al tubo atacado de moho, ostentó una pequeña mata de moho en su superficie.

La infusion de vaca continuó siendo clara durante unos quince dias más. El frio de invierno hizo necesario añadir otro fogon de gas á los dos que calentaban antes el labora-

(1) Se aplicaron dos aros de hierro concéntricos á esta tabla, dejando entre ambos el espacio de una pulgada. La parte anular se llenó de cimento caliente, en el cual se pegó la campana igualmente caliente. Todo el interior del pequeño círculo se habia cubierto anteriormente con la misma materia.

torio. El calor de ese fogon obró sobre un lado de la campana, y al dia siguiente la infusion de vaca contenia un *mycelium*. En tal circunstancia las manchitas de *penicillium* hubieran podido escapar á la observacion, y si hubiese sucedido esto, habria parecido que nos encontrábamos en presencia de tres casos de generacion espontánea, más convincentes que ninguno de los invocados hasta entonces, para sostener la teoria.

Volvióse á practicar á continuacion el experimento en más vasta escala. Colocáronse doce grandes tubos de ensayo en una tabla de madera revestida con una recia capa de cimento. Mientras éste se hallaba todavia caliente, se le adaptó una campana colosal, que lo mismo que en los experimentos anteriores se vació y llenó varias veces, tomándose todas las precauciones para que el aire nuevo se filtrase por entre un tapon de uata. Los tubos de ensayo contenian infusiones de heno, nabo, vaca y carnero, tres de cada una, total doce. Por espacio de dos meses permanecieron tan claras y transparentes como el dia de su introduccion, mientras que doce tubos semejantes, preparados al mismo tiempo y precisamente de la misma manera, suspendidos en una tablilla fuera de la campana y expuestos por lo tanto al aire ordinario, se llenaron de *mycelium,* moho y bacterias en menos de una semana.

Uno de los tubos protegidos se rompió accidentalmente y se tapó rápidamente la rotura, con uata, pero no tanto para que un poco de aire exterior dejase de entrar en el aparato. La evaporacion de las infusiones siguió su curso y el vapor se condensó en lo alto de la campana, de donde se excurrió por las paredes, arrastrando consigo las materias que podian estarle adheridas. Formóse así un pequeño aguazal encima del cimento. Después de tres meses de intérvalo, esta agua se cubrió de discos de *penicillium,* por los esporos del cual fueron invadidas pronto una ó dos infusiones, en las cuales se desarrollaron magníficas matas de *mycelium.*

§ 20

Experimentos con aire calcinado.

Demostrado está desde muchos años que las materias en suspension en el aire podian separarse por la accion de un alambre de platino candente. En las siguientes circunstancias se empleó el misma método. El aparato empleado es el que se representa en la figura 5. Colócase una campana de cristal en una tabla de madera sostenida por un trípode. Por esa tabla pasan tres grandes tubos de ensayo casi llenos de la infusion que se pretende examinar. Una espiral de platino, P, reune los extremos de dos alambres de cobre verticales, que pasan á través del soporte y siguen al exterior. La campana está rodeada por abajo con un collar de estaño que deja un espacio circular de media pulgada próximamente. Este espacio se rellena con uata fuertemente apretada. Poniendo en conexion los alambres de cobre con una bateria de quince elementos, se hizo pasar la corriente. La espiral P se calentó hasta el blanco y se la mantuvo en tal estado durante cinco minutos. La experiencia ha demostrado, en efecto, que este tiempo era suficiente para la destruccion entera de las materias en suspension. Estando caliente la espiral, el aire se dilataba y salia de la campana, y viceversa, cuando se interrumpia la corriente bajaba la temperatura y se efectuaba una entrada de aire; pero solamente de aire privado de partículas en suspension, puesto que habia de pasar á través de la uata.

Las tres primeras sustancias puestas en contacto con el aire calcinado de esta manera, fueron jugo de ciruelas, de peras y una infusion de levadura. Las tres se cocieron por espacio de cinco minutos, *y durante seis meses permanecieron sin ninguna mancha ni tur-*

bidez. Otros tubos semejantes cocidos y colocados debajo de una campana, que contenia aire vital ó sea aire ordinario y tenia dichas materias en suspension, habian sido invadidas desde mucho tiempo por el moho ó la putrefaccion.

Se han citado entre las sustancias aptas para la generacion espontánea, las infusiones de nabo y de heno, haciéndolas ligeramente alcalinas. Deseando comprobarlo el doctor Tyndall, mandó preparar el 26 de noviembre cuatro campanas, dos de las cuales contenian una fuerte infusion de nabo y de heno neutro, y las otras dos las mismas infusiones, pero ligeramente alcalinizadas con potasa cáustica. No se pudo observar ningun desarrollo espontáneo de la vida. Despues de muchísimo tiempo los tubos ostentaban igual claridad y color que el dia en que se pusieron á hervir. Tubos herméticamente cerrados que contenian la misma infusion permanecieron igualmente claros; al paso que las muestras expuestas al aire del laboratorio entraron en putrefaccion.

Los experimentos con aire calcinado se practicaron tambien en otra forma y en una vasta escala. Una campana semejante á la ya descrita, se cimentó del mismo modo en una tabla de madera, á través de la cual pasaban doce grandes tubos de ensayo. Las infusiones, lo propio que antes, se hicieron con heno, nabo, vaca y carnero. Sacóse el aire de la campana por medio de una buena bomba aspirante; y fué reemplazado por otro que habia pasado lentamente por un tubo de platino encendido hasta el color rojo. Examinado por medio del rayo solar el aire calcinado, se vió que estaba completamente libre de materias en suspension. Durante dos meses ninguna mancha turbó la limpidez de las infusiones expuestas en este aire, mientras que una semana bastó para reducir otras doce infusiones semejantes suspendidas de una tabla fuera de la campana, en fango putrificado.

§ 21

Experimentos en el vacío.

El aparato empleado para los experimentos que acabamos de indicar fué el mismo que el escogido para el que se hizo con el aire filtrado, con la sola diferencia de que la campana, al objeto de tener el vacío más perfecto, era de menores dimensiones. Cimentóse de una manera hermética en una tabla de madera, á través de la cual pasaban tres grandes tubos de ensayo llenos en sus dos terceras partes próximamente con infusiones de vaca, carnero y nabo. Vacióse la campana seis veces consecutivas, llenándose á cada una con aire cuidadosamente filtrado á través de la uata. Mientras estaba este aire en contacto con las infusiones, éstas se hicieron hervir con auxilio de una solucion salina. Vacióse en seguida el recipiente con tanta perfeccion como permite una buena bomba aspirante, á la vez que otros tres tubos se suspendian al exterior, para la comparacion.

Tambien entonces las infusiones protegidas permanecieron tan claras como el dia de su introduccion, no solamente despues de haberse cargado de vida las infusiones expuestas, sino tambien de haberse evaporado éstas completamente

Tales son los ensayos á que se sometió la afirmacion de que «ciertas soluciones de nabo y de heno, expuestas al aire filtrado ó al aire calcinado, son más ó menos aptas para llenarse de bacterias y vibriones en el transcurso de cinco á seis dias.» Estos y otros que podrian añadírseles, no dejan la menor duda de que el aire privado de sus materias en suspension, es incapaz de producir la vida; y lo mismo absolutamente dá que la separacion de esas materias se efectúe por filtracion, calcinacion ó cualquier otro sistema. Esterilizada realmente una infusion en contacto con el aire ópticamente puro, queda estéril.

§ 22

La teoria de los gérmenes en las enfermedades contagiosas.

La doctrina de la generacion espontánea, reviste su carácter más grave, en sus relaciones con la teoria de los gérmenes, en las enfermedades contagiosas. Los trabajos de Pasteur fueron los primeros que llamaron la atencion de Tyndall sobre este asunto, al paso que, merced á las observaciones y escritos del malogrado doctor Budd, fué iniciado posteriormente en la parte más especialmente médica, de esa misma cuestion (1).

Nada en verdad preocupa actualmente los ánimos en tan alto grado; nada ha dado márgen á tantas discusiones fisiológicas. «¿Cómo se explica, dice el doctor Burdon Sanderson, que esas bacterias que debian existir ya seis años antes, dieran entonces tan poco que hablar, y ahora ocupen un lugar tan considerable en la literatura médica, inglesa y alemana? ¿Cómo dieron orígen á discusiones tan animadas en la Academia de Ciencias de Francia?» El doctor Sanderson indica la influencia de Lister en Inglaterra y de Hallier en Alemania, sobre ese movimiento que hoy trabaja como un fermento entre el cuerpo médico. Sin embargo, á nadie se debe tanto como al doctor Sanderson sobre los conocimientos que hoy tenemos acerca de la patologia del contagio.

«En 1870, escribe John Simon en uno de sus excelentes informes al Consejo privado de Lóndres, tuve la honra de presentaros los primeros trabajos del doctor Sanderson sobre el particular. En aquella época las consecuencias generales que fué posible deducir, fueron las siguientes:

»1.° Los elementos de forma característica, que el microscopio habia mostrado en abundancia, en diversos productos, que se hallaban en estado de putrefaccion, son formas orgánicas dotadas del poder de reproducirse por sí solas y en ningun modo congenéricas de los animales en que se encuentran, sino más bien de naturaleza vegetal inferior.

»2.° Estos organismos vivientes, son probablemente la esencia del contagio de las enfermedades.

»Tales puntos de vista han ganado despues en claridad de una manera considerable, por efecto de las investigaciones practicadas por el doctor Sanderson, durante los años de 1871 y 1872 sobre el contagio ordinario séptico ó fermento. Porque en este fermento parece existir una fuerza, que obrando desintegrativamente sobre la materia orgánica, puede por una parte causar la putrefaccion de lo que ha muerto, y por otra engendrar los procesos febril é inflamatorio de lo que aun vive.»

En una reunion de la Sociedad patológica de Lóndres, celebrada el 6 de abril de 1875, la teoria de los gérmenes en las enfermedades, fué admitida formalmente como tema de discusion, y los debates continuaron en las siguientes reuniones, con mucha ciencia y un verdadero carácter de seriedad. Esperábase la última conferencia por gran número de miembros distinguidos del cuerpo médico, algunos de los cuales estaban poderosamente influidos, por los argumentos presentados en los debates. Y en resúmen, ninguno discutió en aquella ocasion los hechos más ó menos infundados contra tal teoria. El *leader* de los debates y á la vez el orador más insigne en ellos, fué el doctor Bastian, á quien tocó la tarea de responder á todas las cuestiones presentadas. Admitió la coexistencia de las bacterias y de las enfermedades contagiosas; pero en vez de considerar estos organismos como «probablemente la esencia, ó una parte inseparable de

(1) Sabemos que el doctor Budd fué el primer facultativo inglés que consideró la teoria de la *vitalidad del contagio* desde un punto de vista verdaderamente filosófico. Sus esfuerzos fueron coronados por el mejor éxito, puesto que esta teoria va ganando terreno cada dia.

la esencia» del contagio, el doctor Bastian sostuvo que eran productos patológicos espontáneamente engendrados en el cuerpo, despues de haber enfermado por efecto de contagio real. Creia el doctor Bastian, que el agrupamiento de las partículas últimas de la materia, para formar organismos vivientes, es una operacion que requiere tan poco la accion de una vida antecedente, como el agrupamiento necesario para la formacion *de otros compuestos químicos, más ó menos complejos*.

Por otra parte, esa afirmacion cae ó se sostiene, segun las pruebas que su autor sea capaz de presentar; y en su virtud, el doctor Bastian llamó en su apoyo las leyes naturales y el testimonio de los experimentos, para demostrar la exactitud de sus opiniones. Pareciendo enteramente convencido de la gravedad de la cuestion, se expresó en estos términos, que podríamos llamar solemnes: «Con el fin de resolver esta cuestion, prepararemos una infusion de un tejido animal cualquiera, músculo, riñon ó hígado; lo colocaremos en una botella cuyo cuello se haya estirado y estrechado en la llama del soplete; someteremos el líquido á la ebullicion; sellaremos el tapon de la botella, y colocándola en paraje caliente, aguardaremos el resultado conforme lo he practicado varias veces. Despues de algun tiempo, la infusion préviamente cocida y colocada dentro de la botella herméticamente cerrada, pulula de bacterias y organismos próximos parientes; y esto sucede aun cuando el líquido haya perdido gran número de sus cualidades, á causa de haberle expuesto á la temperatura de 212° F., y sea, por consiguiente, segun toda probabilidad, mucho menos apto para engendrar unidades vivientes independientes, que los líquidos no calentados y tales como se encuentran naturalmente en los tejidos.»

Para servirnos de una expresion del doctor Bastian, aquí estamos en presencia «de una cuestion, que forma la base de la patologia de la clase más importante y fatal de las enfermedades humanas.» Examinemos, pues, la solucion tal como la describe en el extracto que acabamos de hacer.

§ 23

Experimentos hechos con vasos herméticamente cerrados.

Tyndall comenzó sus experimentos con tubos herméticamente cerrados, para comprobar ó refutar al doctor Bastian, el dia 5 de octubre de 1875. La forma de los tubos despues de cerrarlos, está representada por la figura 6. Cada uno de ellos contenia como una onza de líquido. Se pusieron á hervir solamente por espacio de tres minutos en un baño de aceite y se taparon durante la ebullicion, no con un soplete, sino con la llama mucho más eficaz de la lámpara de espíritu de vino.

Heno.—Se cargaron cuatro tubos, en la fecha precitada, con una fuerte infusion, y cuatro con otra más débil. Los ocho tubos permanecieron claros constantemente.

Nabo.—Escogiéronse dos clases de nabos en estos primeros experimentos. Dos tubos se cargaron con una fuerte infusion y dos con otra débil, de una clase de nabo duro y sano, mientras que otros dos pares de tubos se llenaron con semejantes infusiones de un nabo blando y esponjoso. Todos estos tubos siguieron igualmente claros. Al propio tiempo, dos ó tres dias de exposicion al aire del laboratorio, bastaron para que las mismas infusiones se pusieran nebulosas y se llenasen de vida.

El dia 8 de Octubre se cargaron veinte y un tubos con infusiones de las siguientes sustancias:

Caballa.	Harina de avena.
Vaca.	Malto.
Anguila.	Patata.
Ostra.	

Habia tres tubos de cada infusion. Todos quedaron inalterados por muchísimo tiempo.

Nunca se habia visto un ejemplo tan hermoso de la accion dicrótica, que produce los colores del cielo, como en el caso de la infusion de ostra. A la luz refleja presentaba un bellísimo tinte azul, mientras que era amarillo á la luz transmitida. Este fenómeno era debido á la accion de las partículas en suspension, que desafiaban igualmente el agrandamiento del microscopio y la filtracion ordinaria. En ángulo recto, con un rayo de luz transmitida, la infusion daba orígen á la luz polarizada.

Las partículas en suspension dentro de la infusion de patata, produjeron un efecto algo parecido, pero distaba mucho de igualar en hermosura al de la infusion de ostra.

No fué posible separar por medio de la filtracion ordinaria, las infusiones de malto y de harina de avena, de sus materias en suspension; pero las dos, sin embargo, quedaron exactamente claras como lo estaban al principio.

Esos experimentos se practicaron antes de publicarse el tomo de las *Transactions of the pathological Society*, que contenia la discusion mencionada poco há, ó cuando menos, antes de que el doctor Tyndall lo hubiese leido. Pero así que le tuvo, volvió á practicar experimentos buscando una confirmacion de lo que antes habia visto. El dia 12 de noviembre cargó treinta y seis tubos, que se hicieron hervir y se taparon herméticamente; el dia 13, cincuenta y siete; el dia 16, treinta y uno; el 17, cuarenta y dos tubos, formando así un total de 130. Procuró, además, multiplicar las probabilidades que diesen la razon á la teoria de la generacion espontánea, haciendo las infusiones con las más diversas materias. El cuadro siguiente dá los nombres de las sustancias sobre las cuales se operó; el número de tubos tapados y la fecha del experimento:

Pollo. . . .	6 tubos	12 de noviembre.
Carnero. . .	6 »	»
Pato silvestre.	6 »	»
Vaca. . . .	6 »	»
Arenque. . .	6 »	»
Gado. . . .	6 »	»
Mujol.		
Bacalao.		
Faisan.		
Conejo.		
Liebre.		
Chocha.		
Perdiz.		
Chorlito.		
Hígado.		
Corazon.		
Lengua de carnero.		
Cerebro de carnero.		
Idem de ternera.		
Linfa de vaca.		
Cristalino de vaca.		
Pulmon de carnero.		
Tripa.		
Sollo.		

Sumergiéronse los tubos por grupos de seis en un baño de aceite; se cocieron durante cinco minutos, y luego se taparon herméticamente.

De dichos tubos más de ciento estaban claramente transparentes y libres de toda turbidez al principio y del mismo modo permanecieron despues. Sin embargo, en algunos casos no fué posible evitar por completo la nebulosidad por medio de la filtracion. Se ha hablado ya de la opalescencia propia de la infusion de ostras, que se ostenta invariablemente. Lo mismo sucedió y aun de un modo más notable, con la infusion del cristalino de vaca. No se ha visto hasta ahora nada que imite tan perfectamente el brillo del verdadero ópalo como esa infusion. La filtracion á través de cien hojas de papel, fue impotente por completo para separar las partículas en suspension, á las cuales se debe dicha opalescencia. Algunas otras infusiones quedaron un poco turbias, sin ostentar, empero, este fenómeno. El pulmon de carnero, dió un excelente ejemplo de lo último.

Además, en muchos casos en que la filtracion reiterada no bastaba para retener las materias en suspension, un reposo de algunas semanas las arrastraba al fondo y dejaba el líquido flotante enteramente claro. Cumple asimismo notar, que ciertas infusiones de conejo manifestaron una opalescencia muy

clara, mientras que otras estaban perfectamente puras. La misma observacion puede hacerse de las infusiones de nabo, algunas de las cuales se encontraron tan limpias como el agua destilada, al paso que en general ostentan una opalescencia que puede evitarse por medio de una minuciosa filtracion.

Todas estas últimas observaciones estuvieron en armonia con las primeras. Esta multitud de frascos ó tubos, ofrecia las condiciones que Bastian declaró fáciles de observar (1). Si la generacion espontánea fuese una verdad científica, con seguridad habria debido ostentarse á lo menos en alguna de tantas y tan variadas ocasiones. Puede alegarse al propio tiempo, que las infusiones empleadas fueron *modificadas* por la ebullicion, pues varios tubos expuestos, que contenian idénticas infusiones y fueron absolutamente tratadas de la misma manera, se resolvieron con la rapidez usual, en enjambres de bacterias.

§ 24

Condiciones relativas á la temperatura y fuerza de las infusiones.

Durante el curso de dichos experimentos procuró Tyndall, lo mejor que pudo, llenar todas las condiciones indicadas por los heterogenistas como esenciales para el buen éxito. En cuanto al calor, una temperatura de 90° F. era la media que reinaba en su laboratorio; y esa temperatura pudo elevarse á 100° F. los dias en que el tiempo estaba bonancible y en situaciones favorables al interior. Como el doctor Bastian daba gran importancia al calor y la mayor parte de sus resultados los habia obtenido á temperaturas de 15 á 30° inferiores á las de Tyndall (1), creyó éste que seria preferible colocarse en las mismas condiciones que él. Los tubos tapados que se habian mostrado estériles en el Instituto Real, se suspendieron dentro de cajas abundantemente perforadas, de manera que permitiesen la libre circulacion del aire caliente, y colocáronse bajo la vigilancia de un preparador inteligente, en los Baños turcos, Fermyn Street. La cámara de abluciones del establecimiento se encontró conveniente por todos conceptos al objeto, y allí se suspendieron las cajas. El doctor Bastian concede de dos á seis dias, para la generacion de los organismos, en los tubos herméticamente cerrados. Los del doctor Tyndall permanecieron allí hasta nueve dias. Los termómetros colocados en las cajas y consultados dos ó tres veces al dia, demostraron que la temperatura fluctuaba entre un mínimum de 101° á un máximun de 112°. Al fin de los nueve dias las infusiones eran tan claras como al principio.

Mandóselas transportar entonces á una sala más caliente, á una temperatura de 115°, puesto que ésta se habia indicado como favorable á la generacion espontánea. Durante quince dias la temperatura no osciló de esta cifra, bajando una sola vez á 106°, subiendo á 119° en tres ocasiones, y á 118° en una. El resultado fué idéntico al que antes se habia obtenido: las temperaturas más altas, fueron incapaces de desarrollar la vida.

Cincuenta y seis observaciones, comprendiendo el máximum y el mínimum del termómetro, se practicaron durante el tiempo que los tubos estuvieron en la sala de abluciones, y setenta y cuatro mientras ocuparon la segunda cámara.

La pregunta del doctor Bastian referente á las elevadas temperaturas, era muy reciente cuando los últimos experimentos del doctor Tyndall; y antes de que éste presentase su comunicacion en 13 de enero á la Sociedad

(1) Proc. Roy. Soc. tom XXI, pág. 130. Véase además *Beginnings of Life*, tom. I, pág. 354.

(1) El grupo de frascos fué sometido á la inspeccion de los miembros de la Sociedad Real de Lóndres el 16 de enero de 1876.

Real, habia aquel trabajado con buen éxito á temperaturas más bajas que las empleadas por Tyndall en Albemarle Street. Siguió éste las prescripciones de Bastian, si bien teniendo cuidado de hervir y encerrar el líquido debidamente; pero sus resultados se negaban á dar el mismo efecto.

Al saberlo Bastian, suscitó una objecion relativa á la temperatura, é impuso una nueva condicion. Tyndall la aceptó; y sin embargo, nada se consiguió en favor de la generacion espontánea.

En lo que concierne á la concentracion, hemos indicado en los párrafos 3 á 16 la gran diversidad que ofrecian todas las infusiones que se han citado, durante su lenta evaporacion. Mas sea como fuere, en todas ellas se cumplieron las condiciones exigidas y aun con exceso, pues la fuerza de una infusion se considera determinada por su densidad; y Tyndall practicó todos sus experimentos con infusiones de igual densidad que las empleadas por el doctor Bastian. Aunque el doctor Burdon Sanderson conceptúa como demostrado (1) que á veces aparecen enjambres de bacterias en tubos herméticamente cerrados, nunca pudo el doctor Tyndall obtener semejantes resultados con infusiones puramente líquidas, á pesar de los vivos deseos que tenia de conseguirlo. Preparó infusiones de heno y de nabo, precisamente de la misma fuerza y naturaleza que las empleadas en los experimentos en cuestion, haciéndolas hervir en un baño de aceite, cerrándolas cuidadosamente y sometiéndolas á una temperatura conveniente. En sus múltiples experimentos quedaron siempre sus infusiones uniformemente estériles (2).

§ 25

Poder de desarrollo de las infusiones y soluciones: gérmenes del aire comparados con los del agua.

Deseando el doctor Tyndall practicar todos sus experimentos ya con aire purificado, ya al abrigo del aire, de manera que en ninguno dejasen de exponerse las mismas infusiones al aire ordinario, dividió en cierto número de grupos cien tubos de ensayo, cuyas dimensiones eran de una pulgada de diámetro y tres de profundidad, llenando cada grupo con idéntica infusion. Estos grupos eran suficientes para abarcar todo el número de substancias mencionadas en el párrafo anterior. Expuestos al aire no purificado, fueron atacados en diversos grados de rapidéz y vigor; pero á los pocos dias, todos, sin excepcion, se volvieron fangosos y pululantes de vida. Las infusiones que presentaron el mayor contraste entre sí, fueron la de liebre y la de faisan. Los tubos que contenian la primera, estaban atacados ya desde mucho tiempo cuando los segundos apenas fueron invadidos. Además, la putriscibilidad del faisan fué superada por la de la chocha, la de la perdiz y la del chorlito. El corazon de carnero fué tambien muy lento en putrificarse. A fin de darle á comprender sin que hayamos de extendernos mucho acerca de ello, no citaremos aquí más que un ejemplo de esta diferencia, en el modo de poder desarrollar la vida bacterídica.

El dia 13 de noviembre, se expusieron al aire del laboratorio treinta tubos, que contenian infusiones de perdiz, faisan, chocha, liebre, corazon de carnero y bacalao, á razon de cinco tubos por cada una, y en comparacion con cuatro tubos de chorlito y tres de hígado. Los dias 15, 16 y 22, el número de los tubos invadidos por las bacterias era el siguiente:

---

(1) *De Natura*, tomo VII, pág. 180.

(2) Ciento veinte frascos herméticamente cerrados, que contenian infusiones animales ó vegetales, y algunas de las cuales contaban más de tres años de existencia, no demostraron jamás el menor vestigio de vida bacterídica.

	el 15	el 16	el 22
Perdiz. . .	0	3	Todos.
Faisan. . .	0	1	»
Chocha. . .	2	3	»
Liebre.. . .	2	4	»
Corazon. . .	0	1	»
Bacalao. . .	2	4	»
Chorlito. . .	1	2	»
Mujol. . . .	1	2	»
Hígado. . .	1	3	»

Sin duda estaban infectos todos, antes del dia 22, pero el doctor Tyndall no tuvo la precaucion de examinarlos, desde el 16 hasta la fecha citada.

Mas sea como fuere, es lo cierto que en los dos primeros dias no se notó cambio alguno visible en la infusion de faisan, mientras que en dos tubos de liebre la putrefaccion habia comenzado perfectamente. Tres dias de exposicion, no hicieron ceder más que uno de los tubos de la primera infusion; y cuatro de la segunda, habian sido atacados durante el mismo tiempo. La diferencia se manifestó tambien por la cantidad de moho desarrollada en su superficie. Algunos dias despues de su preparacion, cinco tubos de faisan quedaron fuertemente cubiertos de *penicillium,* al paso que salvo una sola excepcion, que apenas podia considerarse como tal, todos los tubos de liebre estaban exentos, manteniendo sus bacterias inalteradas.

Sin embargo, las propiedades de la infusion de liebre podian ser debidas mejor que á una diferencia específica, á las circunstancias que precedieron á la muerte del animal. Las investigaciones del doctor Brown-Sequard, han demostrado que segun los casos, idénticos tejidos pueden presentar muy diversas tendencias á la putrefaccion. Los cerdos de la India sometidos inmediatamente despues de su muerte, á una corriente magneto-eléctrica, dieron por resultado que la rapidez de la putrefaccion correspondia á la violencia de la tetanizacion. Llamó en seguida la atencion sobre la influencia del ejercicio muscular en la rigidez cadavérica y la putrefaccion, probando cuan rápidamente aparecen la una y la otra en los animales cansados ó en los perseguidos y muertos por el cazador. Todos los cazadores, efectivamente, saben que una liebre sorprendida y muerta quedará sana y flexible durante todo un dia á lo menos, mientras que el mismo animal perseguido y cazado, se pone rígido al cabo de una ó dos horas. En septiembre de 1851, dos carneros que se habian fatigado por querer su dueño que llegasen á una feria, fueron degollados al llegar, cortándoles las arterias carótidas. «La putrefaccion, dice el doctor Brown-Squeard, se manifestó antes de acabarse el dia, ó sea antes de ocho horas despues de muertos.»

Las propiedades de la liebre en la cual habia fundado su experimento el doctor Tyndall, podian por lo tanto, ser muy bien la consecuencia de haberla perseguido y alcanzado un lebrel, en vez de morir instantáneamente de un escopetazo.

Interesante será investigar, sobre el particular, hasta que punto las propiedades de un tejido animal se transmiten á su infusion; y esto es lo que examinaron en los experimentos ulteriores (1).

Las observaciones que acabamos de relatar, no dejan de inspirar ciertas dudas, cuando se quieren sacar consecuencias de la marcha de las infusiones, para determinar la distribucion de los gérmenes en el aire. Puede, en efecto, demostrarse la presencia de estos gérmenes, en muchos casos en que las soluciones no son aptas para fomentar su desarrollo. En cuanto á la cantidad y calidad de los gérmenes atmosféricos, la liebre y el faisan pueden conducir á diferentes conclusiones. Conviene hacer aquí una consideracion muy importante en la práctica: En una de las primeras séries de investigaciones con que el doctor Burdon-Sanderson enriqueció la ciencia médica, expuso al aire la llamada *solucion Pasteur*, que es capaz de desarrollar vigorosamente y nutrir bacterias, cuando le han sido comunicadas por inoculacion. Hacia burbujear el aire á través del líquido, y no viendo aparecer la vida, en ningun caso, dedujo la falta completa de bacte-

(1) Veinticinco tubos que contenian una infusion de faisan, se compraron durante el mes de diciembre, con otros tantos de liebre. Las diferencias considerables observadas al principio, no se reprodujeron, ni con la rapidez del desarrollo de las bacterias, ni con la aptitud para soportar el crecimiento del *penicillium*.

rias en el aire, así como de sus gérmenes, y sacó la consecuencia de que el agua era su exclusiva residencia.

Otros sabios llegaron al mismo resultado, y en sus libros y memorias, lo propio que en la discusion tenida en la Sociedad patológica de que hemos hecho mérito, el doctor Bastian se apoya en este hecho para justificar la interpretacion que asignó á sus experimentos. Así es que alega muy justamente que si el aire está enteramente libre de materias susceptibles de dar nacimiento á las bacterias, su aparicion no puede ser debida al aire ni cosa alguna contenida en el aire, sino á un poder inherente á las infusiones.

La generacion espontánea es la sola conclusion lógica del hecho que «la materia germinativa de que derivan las bacterias no existe en el aire ordinario.» Sin embargo, los experimentos mencionados en dicha memoria constituyen, en nuestro sentir, una demostracion ocular del papel respectivo representado por la infusion del aire. Una corta cantidad de esporos tomada entre los dedos y sembrada en un medio ambiente conveniente, no puede indicar de un modo más claro, produciendo la cosecha apropiada, el orígen de esa cosecha, que los experimentos con el rayo luminoso no indican el orígen de los enjambres de bacterias que se desarrollan en las infusiones abandonadas al aire comun.

No puede dudarse que actualmente el doctor Sanderson está en disposicion de reconocer que su primera conclusion estaba fundada en un error de apreciacion. Por otra parte, en una conferencia celebrada en Owens College (Manchéster) el año 1874, modificó considerablemente sus miras tocante al particular. Ahora cree que las bacterias se adhieren á esas diminutas partículas que, apenas visibles á la luz ordinaria, aparecen como átomos de una claridad resplandeciente en los rayos solar ó eléctrico. Efectivamente, en sus primeros experimentos la esterilidad no era debida á la falta de los gérmenes de bacterias en el aire, sino más bien á la ineptitud ó lentitud de su solucion mineral para desarrollarlos.

Por lo tocante al papel desempeñado por los *átomos* visibles, no podemos dejar de repetir lo que hemos mencionado antes, á saber: que mientras las partículas más toscas podian apenas existir en medio de los gérmenes ténues de las bacterias, sin cargarse de ellos á la vez y en cierto grado, no hay motivo para creer que tales partículas sean indispensables para su difusion. Si están juntos dichos gérmenes, la sequedad y la humedad del aire afectan por igual á los dos. Además, los gérmenes flotan en el aire más fácilmente que las partículas más toscas, y sin duda alguna, cuando están debidamente iluminados, esparcen una porcion de la luz cambiante que hemos mencionado ya, y cuya polarizacion perfecta indica bastante claramente la pequeñez de las masas que la dispersan.

La existencia de la materia germinativa de las bacterias en el agua, ha sido demostrada por los experimentos del doctor Burdon Sanderson. Pero los gérmenes del agua, conviene recordarlo, están en condiciones muy diferentes, respecto de la aptitud al desarrollo, que los del aire. En el agua están ya mojados y prontos á pasar bajo ciertas condiciones favorables al estado de organismo acabado. Por el contrario, en el aire están más ó menos secos y requieren un período de preparacion más ó menos largo para ponerlos en el punto de partida de los gérmenes acuáticos (1). La rapidez del desarrollo en una infusion infectada por una gota de líquido que contenga bacterias es tan extraordinaria como la infectada por una gota de agua destilada. El 4 de enero de 1876 sumergió Tyndall un hilo de cristal casi tan fino como un cabello en una infusion nebulosa de nabo, y luego introdujo la punta en un tubo de ensayo que contenia una infusion de mujol rojo. Doce horas despues, el líquido primitivamente claro estaba turbio por completo. Otro tubo de ensayo, que

(1) El proceso por medio del cual se moja un gérmen atmosférico, seria un asunto interesante de investigacion. Un topa-objetos seco de microscopio puede flotar por el agua durante un año, y lo mismo puede decirse de una aguja, por más que su densidad sea unas ocho veces mayor que la del agua. Si no hubiese ninguna relacion específica entre la materia del gérmen y el líquido en que cae, la humectacion seria simplemente imposible. Antes de todo desarrollo debe haber un cambio de materia entre el gérmen y lo que le rodea, y este cambio debe evidentemente depender del líquido escogido.

contenia la misma infusion, fué infectado con una simple gota de agua destilada proporcionada por los señores Hopkin y Williams, é igualmente bastaron doce horas para enturbiar la infusion así tratada.

El mismo experimento practicado con una infusion de arenque produjo el mismo resultado. En invierno bastaban algunos dias de exponer al aire caliente una infusion semejante para producir el mismo efecto con los gérmenes atmosféricos.

El dia 31 de diciembre preparó el mismo doctor una fuerte infusion de nabo por medio de la digestion en el agua destilada á la temperatura de 120° F. Distribuyóla entre cuatro grándes tubos de ensayo. En el primero la dejó tal como estaba; en el segundo la hizo cocer durante cinco minutos y en las otras dos la hizo hervir igualmente; pero despues del enfriamiento, la infectó en ambos con una gota de infusion de carne de vaca que contenia bacterias. En veinte y dos horas el tubo no cocido y los dos infectados estaban nebulosos, siendo el primero el que se hallaba más turbio de los tres. La infusion no cocida era especialmente límpida despues de la digestion. Por lo que se refiere al nabo era enteramente un caso excepcional, y por más cuidados que se tuvo fué imposible que el microscopio revelara una sola bacteria en su interior. Luego se encontraban en la infusion los gérmenes que debidamente nutridos pudieron en menos de un dia pasar al estado de enjambres de bacterias sin cuento.

Cinco dias no bastaron para producir un efecto aproximadamente igual en el tubo de infusion cocida, pero no infectada, que tambien se habia expuesto al aire del mismo laboratorio. Por lo cual es de creer que no puede haber duda de ser los gérmenes del aire muy diferentes entre sí con respecto de la aptitud de desarrollar la vida. Algunos son nuevos, otros son viejos, unos secos, otros húmedos. Infectada por tales gérmenes la misma infusion necesitará tiempos diferentes para llenarse de bacterias. Y esta observacion puede aplicarse sin la menor vacilacion á los diferentes grados de rapidez, en virtud de los cuales las enfermedades epidémicas infectan á los diferentes pueblos. En algunos, el período de empollamiento, si así vale decirlo, es muy largo, mientras que en otros es corto; y esas diferencias dependen de la mayor ó menor aptitud al contagio (1).

§ 26

Distribucion de los gérmenes en el aire.

Durante las primeras observaciones hechas en el ensayo anterior, se distribuyeron unos cien frascos ó tubos irregularmente en las salas de experimentos y fueron expuestos al aire ordinario; y despues fueron elevándose hasta más de mil, sin que ni uno solo escapara á la infeccion. Pocos dias bastaron para turbar esas infusiones y llenarlas de vida bactérica. Tyndall colocó varios tubos en distintos parajes de la Institucion Real, en el tejado, al exterior, en la biblioteca, en su alcoba, en la cocina, en su despacho, en el teatro, en la sala de modelos, en el gabinete del director y en una cocina baja. Todos fueron atacados de putrefaccion con su invariable correlativo de bacterias. En las salas que carecian de fuego el efecto fué más lento que en los aposentos calientes; pero al fin y al cabo todas las infusiones fueron atacadas.

Relativamente á la distribucion de las bacterias, será interesante resumir las siguientes observaciones hechas fuera de Lóndres. El 27 de octubre, un tubo que contenia una in-

(1) Muy bueno seria que los médicos reuniesen sus observaciones haciendo constar un dato semejante á éste del doctor Murchison: «En esta enfermedad protea, que se llama fiebre tifoidea, dice, tuve con frecuencia ocasion de observar una semejanza notable en el desarrollo y hasta en las complicaciones segun fuese el orígen del virus.» *Tram. Path. Soc.*, t. XXVI, pág. 315.

fusion de carne de vaca fué enviado á Darwin que lo colocó en su gabinete de Down para observar los cambios que hacia. En tres dias esa infusion se puso nebulosa poblándose luego de bacterias. Y el mismo resultado se obtuvo al aire libre. Darwin expuso, además, en obsequio á su colega Tyndall, una solucion en el jardin de su padre. El tiempo era frio, lo cual retardó el desarrollo de la vida; pero el tubo que habia expuesto el 2 de noviembre, volvióse nebuloso y cuajado de bacterias el dia 9. En el gabinete de John Ludbock se hizo la misma observacion. El doctor Siemens devolvió á Tyndall varias infusiones de pollo y de pato completamente turbias y cargadas de bacterias. Russell tambien le envió desde más lejos aun, desde Pembroke Lodge, tubos de nabo, de vaca y de carnero pululando de vida bacterial.

Seria prolijo enumerar las diferentes infusiones que se mandaron á diversos puntos de Inglaterra por el profesor Tyndall y que le fueron devueltas con el mismo resultado, sin que una sola dejase de producirle.

El doctor Hooker se encargó de tres séries de tubos en Kew, comprendiendo cada série vaca, carnero y nabo. Colocóse la una en el invernáculo á una temperatura de 45 á 50°, otra en su gabinete de estudio á la temperatura de 45 á 60°, y la tercera en la sala de las *orquideas* (la más caliente del jardin) á la temperatura de 62 á 76°. Los tubos fueron expuestos el 4 de diciembre; el nabo quedó nebuloso el dia 7, la vaca y el carnero el 8, despues de lo cual fué aumentando rápidamente la opacidad. En el gabinete de estudio todos los tubos permanecieron claros hasta el dia 9, época en que el nabo se enturbió. El 11 permanecia aún clara la carne de vaca, en tanto que la de carnero habia cedido. El dia 13 todos los tubos estaban atacados. En el invernáculo, el nabo se puso nebuloso el dia 10, y los demás le siguieron por el mismo órden descrito antes.

Parece que la influencia de la temperatura queda muy puesta en evidencia por esas observaciones. Bastaron tres dias para enturbiar la infusion de nabo en la sala de las *orquideas;* se necesitaron cinco en el gabinete y seis en el invernáculo. La carne de carnero se cubrió en el gabinete con una densa capa de *penicillium*. El dia 13 habia tomado un tinte pardo rojizo, «como si le hubiesen mezclado arcilla;» y poco despues la infusion se volvió transparente. La *arcilla* era el lodo de bacterias dormidas ó muertas, cuya separacion fué originada por la formacion del moho. No se encontró vida activa en este tubo, en tanto que los otros hormigueaban de bacterias.

Hiciéronse en Paris iguales experimentos con las infusiones de nabo, carne de vaca y de carnero, dando todas los mismos resultados, si bien que, á causa de haberlas sometido á una temperatura baja, tardó á formarse el desarrollo completo de las bacterias.

Por consiguiente, quedó una vez más demostrado que los gérmenes de las bacterias están esparcidos por doquiera en la atmósfera.

Faltaba, sin embargo, adquirir una idea más clara de la distribucion de los gérmenes. Supongamos que se ha llenado un gran plato poco hondo de una infusion orgánica conveniente, y expuesto al aire. Los gérmenes caerán en él sin duda alguna; y si los organismos que de ahí resultan pueden quedar confinados al paraje en que los gérmenes han caido, tendremos de ese modo una especie de *mapa* que reproducirá la distribucion de la vida flotante de la atmósfera. Pero no dejarán de entremezclarse tales organismos en el plato y por lo tanto no llegaremos á ningun resultado positivo. En cambio, obtendremos preciosos datos si dividimos la infusion y la colocamos en una série de tubos más ó menos contiguos y expuestos al aire.

Para realizar esa idea se construyó una caja de madera, cuadrada, cuyo fondo tenia cien aberturas circulares: en cada una de ellas se metió un tubo de ensayos, que media tres pulgadas de largo por una de diámetro y cuyo borde descansaba en el contorno de la abertura. Habia allí diez hileras de diez tubos cada una. El 23 de octubre de 1875, treinta de dichos tubos se llenaron con infusion de heno, treinta y cinco con infusion de nabo y otros treinta y cinco con infusion de carne de vaca. Los tubos con sus infusiones se habian previamente cocido en un baño de aceite y de diez en diez.

Trazáronse en un papel cien círculos que representasen el fondo de la caja en cuestion, y cada dia se iba consignando el estado de todos los tubos, en los círculos correspondientes; y así se trazaron siete mapas semejantes que indicasen la vida bactérica en las infusiones, dia por dia y con toda exactitud.

Nos serviremos del término *nebuloso* para indicar el primer grado de la turbidez, determinado y distinto, pero poco marcado. La palabra *fangoso,* expresará, por lo contrario, una turbidez más avanzada.

§ 27

La caja de cien tubos.

El dia 25 de octubre mostraban tendencia á ceder uno ó dos tubos expuestos el 23; pero los progresos de la putrefaccion no comenzaron á consignarse hasta el dia 26. La figura 7 que representa el primer trazado ó mapa, puede describirse del modo siguiente:

Infusion de heno.—De las treinta muestras expuestas, una sola se habia puesto fangosa, la séptima de la hilera de en medio, contando por el lado en que la caja estaba más cerca de una estufa. Seis tubos permanecian aún perfectamente claros entre el que estaba fangoso y la estufa, demostrando así que las diferencias de calor eran superadas por otras causas. Todos los demás tubos de heno ostentaban el moho sobre el líquido claro.

Infusion de nabo.—De los treinta y cinco tubos de esta infusion habia cuatro que estaban ya fangosos: dos se hallaban en la hilera más próxima á la estufa; uno distaba de cuatro hileras y el último distaba de nueve, puesto que se encontraba en la última. Además de esos cuatro, habia otros siete que se habian puesto nebulosos, si bien ninguno de ellos presentaba manchas de moho.

Infusion de vaca.—Uno de los treinta y cinco estaba enteramente fangoso en la séptima hilera á partir de la estufa; y habia además, tres tubos nebulosos y siete que llevaban manchas de moho.

Por regla general las infusiones orgánicas expuestas al aire libre, durante el otoño, permanecieron claras por espacio de dos dias á lo sumo. Sin duda caerian en ellas algunos gérmenes desde el primer dia, pero necesitaban cierto tiempo para transformarse en organismos. Este período de claridad puede denominarse período latente; y en realidad corresponde exactamente á lo que se entiende con estas palabras en medicina. Al final del *período latente,* es comparativamente brusco el paso al estado de enfermedad si puede expresarse así: la infusion pasa del estado de limpidez más perfecta á la nebulosidad más ó menos densa en pocas horas.

Así, por ejemplo, el tubo colocado en casa de Darwin estaba claro á las ocho y treinta y tres minutos de la mañana el dia 19 de octubre, y nebuloso, á las cuatro y treinta minutos de la tarde del mismo dia.

Siete horas despues de haber trazado el primer *mapa* de la mencionada caja, se habia efectuado un cambio notable. Para comprender la comparacion damos el segundo trazado en la figura 8. La modificacion de que hablamos puede describirse del modo siguiente:

En vez de uno, ocho de los tubos que contenian la infusion de heno se hallaban en un estado fangoso uniforme. Diez y nueve habian producido un gran número de bacterias que habian caido en el fondo, cubriéndose despues el líquido de manchas de moho. Solamente tres tubos seguian estando claros, si bien que con una capa de *penicillium* en la superficie. Los tubos de nabo habian aumentado de cuatro á diez; siete estaban nebulosos, mientras que diez y ocho permanecian claros, teniendo aquí y allá una mancha de moho en la superficie. De la infusion de vaca seis estaban nebulosos y uno muy fangoso en tanto que se habian formado manchas de moho en la mayoria de los tubos restantes.

Quince horas despues de la expresada observacion, ó sea en la mañana del dia 27 de octubre, todos los tubos que contenian la infusion de heno se hallaban atacados, aunque en diversos grados, ya que algunos estaban mucho más turbios que los demás. De los tubos de nabo solamente tres permanecian inalterados, si bien dos de los mismos tenian manchas de moho en la superficie. Unicamente se conservó intacta una de las treinta y cinco infusiones de carne de vaca.

Además, se habian efectuado otras modificaciones en el tubo que habia sido atacado primeramente. El fango estuvo pardo durante un dia y medio, luego se volvió amarillento verde y brillante, guardando este color hasta el fin. La tarde del 27 estaban atacados todos los tubos de la caja, la gran mayoria con una turbidez uniforme, algunos tan sólo con algunas manchas de moho encima y fango debajo, permaneciendo perfectamente límpido el líquido de en medio.

El proceso entero lleva una semejanza muy notable con la propagacion de una epidemia á través de una poblacion, siendo los ataques sucesivos y de diferentes grados de violencia. Las figuras 9 y 10 representan una copia del cuarto y séptimo mapas con sus fechas respectivas.

El dia 31 de octubre todos los tubos que contenian infusion de heno estaban turbios, algunos más profundamente y ostentado un color más subido que los demás. Al principio todos eran del mismo color. De los treinta tubos, únicamente cuatro se hallaban libres de moho. Tres de ellos estaban contiguos, y el cuarto, muy distante de los tres.

Particularmente, hermoso era el *penicillium* que se formó en estas infusiones. Su forma dominante era la de un disco circular verde formado de zonas brillantes y oscuras que alternaban con bastante regularidad. En algunos casos, el líquido estaba cubierto con una capa única; en otros, se habian formado tres ó cuatro discos compuestos de diferentes zonas coloradas en cada uno. Y hasta se encontraron tipos reticulados. Tres especies de *penicillium* parecian luchar por la existencia, á saber: la que acabamos de describir; otra especie de menos consistencia y color, pero que formaba pequeños montones en vez de círculos; y por último, un moho blanco, voluminoso, de aspecto lanar, en medio del cual las otras dos especies de moho existian á veces en forma de pequeños islotes.

Todos los tubos que contenian la infusion de nabo se hallaban igualmente turbios el dia 31. Nueve de ellos estaban libres de moho; y aquellos en que el moho existia, parecian exactamente pequeños capullos. Los tubos de carne de vaca se ostentaron igualmente turbios aquel dia, y diez y siete de ellos estaban libres de moho. Además, el moho formado en esta carne era menos luturiante que el del heno ó del nabo. La potencia de desarrollo del *penicillium* es mayor en el heno, menor en el nabo y más débil en la infusion de vaca.

Siempre y cuando los mohos eran densos y adherentes, las bacterias morian ó pasaban al estado de reposo, cayendo en el fondo parecidas á un sedimento. El crecimiento de tales mohos y su efecto sobre las bacterias eran además, muy variables. La infusion de nabo, despues de haber desarrollado primeramente una vida bactérica muy abundante, se cubre casi siempre de *penicillium* que destruye las bacterias y aclara toda la parte de líquido comprendida entre el sedimento y la superficie. De dos tubos colocados al lado uno de otro, el primero fué invadido por las bacterias, que combatieron con buen éxito el moho y conservaron clara su superficie: en cambio, el moho se enseñoreó del segundo tubo, lo cual acarreó la muerte aparente de las bacterias que en él se habian desarrollado.

Hemos demostrado que esto era constante en todas las infusiones: peces, carne, volateria ó vegetales. Así, por ejemplo, de tres tubos colocados uno al lado de otro, en una misma hilera y que contenian una infusion de sollo, los dos extremos se cubrieron de una densa capa de moho, mientras que el tubo central no tuvo la menor mancha en su superficie. Las bacterias que producen un pigmento verde, parecen salir constantemente victoriosas en su lucha con el *penicillium*.

Las observaciones que preceden nos dan motivo para sacar interesantes consecuencias. Podemos deducir de la manera irregular con que han sido atacados los tubos, que relati-

vamente á la *cantidad,* los gérmenes no están distribuidos de un modo uniforme en la atmósfera. Un tubo estará por ejemplo atrasado ó avanzado de un dia con respecto á sus vecinos.

Además, la eleccion de un tubo entre ciento por las bacterias que desarrollan un pigmento verde ó viceversa, nos demuestra igualmente que por lo que toca á la *calidad,* la distribucion tampoco es uniforme. Las siguientes observaciones ponen claramente en evidencia este fenómeno: de veinte y cinco tubos de diferentes infusiones animales expuestas por grupos de cinco, á mediados de noviembre, y plagados de vida bactérica, cinco eran verdes. Estos últimos se repartian así: de vaca, 2; arenque, 1; gado, 1; pollo, 1; pato silvestre o. La misma falta de uniformidad se manifiesta en la lucha por la existencia entre las bacterias y el *penicillium.* En algunos tubos triunfaban los primeros, y en otros tubos de la misma infusion sucedia lo contrario.

Por consiguiente, parece prevalecer la falta de uniformidad en lo relativo á la *energia vital.* En algunos tubos los movimientos de las bacterias son excesivamente lentos; en otros, al revés, parécense á una lluvia de proyectiles tan rápida y violenta, que la vista no puede dominarlos sin dificultad. Teniendo, pues, muy en cuenta todas esas consideraciones, puede deducirse que los gérmenes flotan en la atmósfera por grupos ó nubes y que constantemente el aire acarrea una nube diferente de la anterior. Por lo tanto, el contacto de un fluido nutritivo con una nube de bacterias puede originar un resultado muy distinto que el de su contacto con el aire estéril comprendido entre dos nubes consecutivas. Mas de igual modo que en un cielo nublado á copos las diversas partes del paisaje son sucesivamente invadidas por la sombra, así tambien los tubos de la mencionada caja son á la larga invadidos por los copos ó nubes de bacterias, de donde resulta una fertilizacion ó infeccion final (1).

Esta caja de 100 tubos fué de tan notable auxilio para concebir la distribucion de los gérmenes en el aire, que el 9 de noviembre de 1875 Tyndall expuso otra semejante, pero que contenia cien tubos llenos de una infusion de carnero. A la mañana del 11 seis de las diez más próximas á la estufa habian cedido á la putrefaccion; y lo mismo habia sucedido con tres de la hilera más distante, mientras que en el interior algunos habian sido irregularmente atacados. En su totalidad veinte y siete eran nebulosos ó fangosos. Sin duda, de igual modo en una atmósfera infecciosa deben ser atacados sucesivamente los individuos que en ella respiran. El dia 12 habian cedido todos los tubos, si bien eran considerables las diferencias que entre ellos habia. Todos contenian bacterias, unos en pequeña cantidad, otros á enjambres innumerables; en algunos tubos eran perezosas y lánguidas en sus movimientos, mientras que en otras bullian con extraordinaria vivacidad.

Como quiera que todas las infusiones eran iguales, semejantes divergencias no podian atribuirse más que á la materia germinativa. Supongamos ahora que tenemos á la vista el cuadro desconsolador de una epidemia, en el cual se vé que la diferencia en el número y energia de los enjambres bactéricos corresponden á la intensidad variable de la enfermedad. Con tales experimentos queda evidenciado que de dos individuos de la misma poblacion, expuestos á una atmósfera contagiosa, puede el uno verse fuertemente atacado, y levemente el otro, aunque sean entre sí tan poco diferentes como las indicadas infusiones de carne. Lo que hemos dicho sobre el *estado de preparacion* del contagio encuentra aquí ahora su aplicacion. Y no de otro modo pueden explicarse los caprichosos saltos que suelen observarse con los focos de infeccion ó de contagio cuando se desarrollan algunas epidemias.

El paralelismo de los fenómenos que acabamos de estudiar con los progresos de las enfermedades contagiosas puede todavia ha-

(1) En la práctica de los hospitales la abertura de una herida durante el paso de una nube bactérica debe tener un efecto muy distinto de su abertura en un intérvalo entre dos nubes. Ciertos caprichos en la curacion de algunas heridas vendadas, encuentran quizás la explicacion en este fenómeno.

cerse más notable. El *Times* del 17 de enero de 1876, por ejemplo, insertaba una carta sobre la fiebre tifoidea, en la que se encuentra consignado el notable fenómeno siguiente: «En una de sus partes (Edimburgo) existen reunidas y habitadas por las clases inferiores de la poblacion, unas 14,300 casas (muchas sin pisos y edificadas en terreno absolutamente plano), que no tienen la menor relacion con las cloacas, y, sin embargo, carecen de letrinas. Por consiguiente, todos los productos excrementicios ú otros desperdicios procedentes de los habitantes, se reunen en vasijas y permanecen en un rincon del retrete destinado al efecto, hasta el dia siguiente, que es cuando se sacan á la calle y se vacian en los carros de la *Corporacion*. Pues bien, por sucia y corrompida que sea esta poblacion, es, sin embargo, un fenómeno digno de notarse que la fiebre tifoidea y la difteria son desconocidas en estas desdichadas cabañas.»

La analogia de este resultado con la manera de proceder que tienen las infusiones, no puede ser más completa. El 30 de noviembre de 1876, por ejemplo, se colocó cierta cantidad de despojos animales comprendiendo carne de vaca, pescado, liebre, conejo, etc., en dos grandes tubos de ensayos abiertos en una cámara de proteccion que contenia seis tubos. El 13 de diciembre, cuando ya los despojos mencionados se encontraban en estado completo de putrefaccion, se llenaron los otros cuatro tubos con infusiones de pescadilla, de nabo, de vaca y de carnero, sometiéndolas á la ebullicion y abandonándolas á la accion de los gases pútridos que exhalaban los otros dos tubos. Sin embargo, el dia de Navidad estaban límpidas las cuatro infusiones.

Sumergióse entonces, la punta de la pipeta en uno de los tubos que contenian los restos en putrefaccion, y una cantidad de materia, comparable en pequeñez á la vacuna que coje la punta de una lanceta, fué introducida en el nabo. Su limpidez no quedó afectada al momento de una manera sensible, pero el dia 26 estaba turbia. Una gota de esta infusion de nabo afectada fué transmitida á la infusion de pescadilla, y el 28 la enfermedad se habia apoderado completamente de ella. No obstante, los tubos de vaca y de carnero se mantuvieron tan transparentes como el agua destilada. Precisamente como en el caso de los habitantes de Edimburgo, ninguna cantidad de gas fétido tuvo el poder de propagar la infeccion como ninguno de los organismos que constituyen el verdadero contagio, tuvo acceso á las infusiones.

En los experimentos que acaban de describirse, todos los tubos estaban dispuestos en el mismo plano; por lo que era conveniente obtener alguna nocion de la distribucion vertical de los gérmenes en la atmósfera. Al efecto se dispusieron dos planos el uno encima del otro en una misma armazon. El plano superior estaba sometido á la accion de la totalidad del aire comprendido entre él y el techo, lo que equivale á decir que podian bajar hasta él todos los gérmenes que habia en aquel espacio de unos doce piés de altura. El plano inferior estaba cubierto por el primero, existiendo solamente entre los dos un espacio de seis pulgadas.

Si el número de gérmenes contenidos en el aire era proporcional á la altura, no habia duda que el plano superior seria atacado mucho antes. Pero cabalmente sucedió lo contrario. Luego la columna de aire determina menos que el reposo la rapidez del ataque. El aire entre los dos planos estaba mucho más tranquilo que el aire general del aposento, los gérmenes estaban menos expuestos á cambios de lugar y caian más fácilmente en el plano inferior. Al propio tiempo esta observacion nos permite determinar el límite inferior del número de gérmenes contenidos en el aposento en donde se verificaban los experimentos.

El pavimento de la sala media 15 piés por 20; siendo, por lo tanto, su superficie la de 300 piés cuadrados ó sean 43,200 pulgadas; y cabalmente la seccion de cada uno de los tubos de ensayo representaba una pulgada cuadrada. La altura del aposento media 180 pulgadas, es decir, habrian podido colocarse entre el pavimento y el techo treinta capas de tubos de seis pulgadas cada una, habiendo entonces un total de 1.296,030 tubos. Ahora bien, cayendo un gérmen solamente por dia en cada tubo, esta cifra hubiera representado el número de gérmenes. Si en vez de un solo

gérmen por dia, caía uno por hora, el número total se elevaria á 30.000,000. Es probable, además, que el tiempo necesario para la infeccion es mucho menor que el de una hora. En todo caso 30.000,000 de gérmenes, cayendo al dia en las treinta capas de tubos, seria un cálculo extremadamente moderado. Por otra parte, estos no representaban ciertamente más que una fraccion, y hasta una pequeñísima fraccion de los gérmenes contenidos en el aire. En su memoria presidencial presentada á la Asociacion Inglesa en Liverpool, el doctor Huxley suponia que en la atmósfera pululaban miriadas de gérmenes. Creemos que los muchos sabios que ridiculizaron dicho aserto, se apresuraron demasiado á hacerlo, pues segun el cálculo que acabamos de hacer, es la simple expresion de un hecho real y positivo. Y en efecto, si tomamos en sentido literal la voz miriada, aun es enteramente insuficiente para expresar la multitud de gérmenes que pueblan el aire.

§ 28

Algunos experimentos de Pasteur.—Su relacion con las nubes de bacterias.

El 28 de mayo de 1860 abrió Pasteur, en una azotea situada á pocos metros sobre el suelo, cuatro frascos herméticamente cerrados que contenian agua de levadura; y hasta el 5 de junio no sufrieron la menor alteracion. Pero entonces apareció en uno de ellos una mata de *mycelium;* el dia 6 se vió otra mata en otro tubo, y los dos restantes permanecieron intactos y sin organismos. El 20 de julio abrió en su propio laboratorio 6 frascos que contenian tambien agua de levadura. Cuatro de ellos quedaron perfectamente incólumes mientras que los otros dos se cargaron pronto de bacterias.

De tales observaciones, Pasteur dedujo la no continuidad de la causa á que era debida la mal llamada generacion espontánea. Esta consecuencia está perfectamente de acuerdo con la nocion de las nubes bactéricas, tal como resulta de los experimentos de Tyndall. En realidad Pasteur abrió á veces frascos debajo de una nube de bacterias, y obtuvo así la vida; otras veces los abrió en un intérvalo de tales nubes y logró un resultado negativo.

No con el fin de comprobar esas observaciones, sino con distinto objeto, Tyndall abrió el dia 6 de enero de 1876 cierto número de tubos sellados á la lámpara en la misma sala de la Institucion Real. El número de infusiones contenidas en cada tubo, la fecha del cierre, su estado antes de la abertura del dia 6 y su condicion seis dias despues están relatados en el siguiente cuadro:

INFUSIONES	Fecha del cierre.	Estado de los tubos en 6 enero.	Estado de los tubos en 12 enero.
Gallo	27 noviembre.	Claro.	Claro.
Sollo	17 —	—	Turbio.
Nabo n.° 1	5 octubre.	—	*Penicillium* arriba.
» » 2	—	—	Claro.
Heno	—	—	*Mycelium* abajo.
Pato silvestre	12 noviembre.	—	Turbio.
Carnero	—	—	Nebuloso.
Gallina	—	—	Claro.
Vaca	—	—	*Mycelium* abajo.
Gado	—	—	Claro.
Ternera	16 noviembre.	—	*Mycelium* abajo.
Conejo	13 —	—	Claro.
Corazon	—	—	Capa densa arriba.
Faisan	—	—	Claro.
Mújol	—	—	—
Liebre	—	—	—
Chocha	—	—	—
Perdiz	—	—	—
Chorlito	—	—	*Mycelium* abajo.
Bacalao	—	—	Claro.
Riñones	5 enero.	—	*Mycelium* abajo.
Salmon	13 diciembre.	—	Claro.
Pescadilla	—	—	—
Nabo	29 diciembre.	—	—
Heno con 4 gotas de potasa	22 noviembre.	Claro con sedimento.	*Mycelium* abajo.
Heno 2	—	Claro.	— —
» 5	—	Claro con sedimento.	Claro.
» 6	—	—	—
Hígado	30 noviembre.	Claro.	—
Heno	18 —	—	—
»	—	—	—
Nabo	—	—	Fangoso.

Para esos experimentos se habian escogido tubos que contenian un poco de líquido en su parte más desleida. En cada caso el movimiento de este líquido cuando se rompió el tubo, indicó una violenta entrada de aire.

Así de treinta y un frascos abiertos al mismo aire diez y ocho quedaron indemnes, mientras que los trece restantes fueron invadidos por organismos. Este experimento tiene, sin duda alguna, el mismo carácter que el relatado por Pasteur. Semejantes experimentos demuestran hasta la evidencia, si otra demostracion fuese necesaria, que no es el aire ni una substancia gaseosa ó en estado de vapor uniformemente difundida por la atmósfera, lo que es causa de la infeccion, sino alguna sustancia flotante discontínua.

Supongamos ahora que en vez de los tubos se abren treinta y una heridas en la misma sala del hospital, y seguramente lo que se ha verificado con los tubos, sucederá con las heridas, esto es, algunas recibirán gérmenes y entrarán en putrefaccion, mientras que otras podrán librarse de tal desgracia. Ilustrada ahora por el concepto de los gérmenes, y sobre todo por el de las nubes de gérmenes, la conducta diferente de las heridas sometidas á un mismo tratamiento, dejará de ser un misterio insondable para el cirujano, como lo habia sido antes de estudiarse la microbiologia (1).

Durante el curso de esas investigaciones, algunos biologistas han emitido de vez en cuando su opinion en favor de los mencionados experimentos. El profesor Huxley practicó tambien un exámen de cierto número de tubos herméticamente cerrados. Treinta se le entregaron para que los examinara y ninguno le pareció defectuoso. Sin embargo, una inspeccion más atenta le reveló en el interior de uno de ellos la existencia de un *mycelium*. Por un momento no se pudo descubrir defecto alguno en el tubo; su cierre parecia tan perfecto como el de sus compañeros estériles. Sin embargo, de pronto, al agitarlo, saltó una gota de líquido á la cara del profesor Huxley; y entonces vió un orificio de dimension casi microscópica que habia quedado abierto en la punta del tubo. El aire habia pasado por aquella abertura al enfriarse el líquido, y de ahí provenia la corrupcion. Este fué el único tubo defectuoso, decimos, en el grupo de treinta y el único tambien que ostentó señales de vida.

La exposicion de este hecho ante la Sociedad Real, por el profesor Huxley, atrajo la atencion de Tyndall, impulsándole á repetir el experimento. Cierta mañana de noviembre descolgó uno de los tubos herméticamente cerrados del hilo en que estaba atado, y colocándolo al trasluz, vió con asombro dentro del tubo un magnífico *mycelium*. Antes de volver el tubo á su lugar tocó el doctor su extremo delgado y lo encontró cortante. Un exámen más minucioso reveló que la punta se habia roto; el aire ordinario habia entrado en él y á la vez el gérmen del *mycelium*. Otros dos casos, semejante uno de ellos al del profesor Huxley, fueron de igual modo puestos en evidencia. En uno de ellos habia persistido un pequeño orificio despues del supuesto cierre del tubo. El otro caso se notó despues de sacar los tubos colocados en los baños turcos. Uno de ellos contenia un lujuriante *mycelium*. Entonces se observó que el líquido habia disminuido singularmente de volúmen, y al volver el tubo se vió que estaba hendido del fondo.

Ningun caso de pseudo-generacion espontánea pudo jamás comprobarse, sin que pudiese explicarse de otro modo satisfactoriamente.

(1) «Tenemos el registro de numerosos experimentos, decia Knowsley Thornton *(Trans. of. the Pathological Society,* t. XXVI, pág. 313), que demuestran no ser el aire ni los gases en él contenidos, como ni tampoco ninguna materia soluble en el agua, las causas que producen las modificaciones en una herida abierta, sino un algo *particular,* una cosa que despues de haber pasado el paciente por un estado de enfermedad más ó menos constitucional, puede causar la curacion de la herida, como puede producir la septicemia y la muerte. Esta materia particular debe componerse de gérmenes de bacterias y de otros organismos inferiores. Todo induce á la misma consecuencia. Tyndall está perfectamente de acuerdo con el doctor Thornton, por lo que toca á la distincion que hace entre los *gérmenes* y las *bacterias* desarrolladas que flotan en el aire. Y es sumamente importante tener en cuenta esa distincion. Cuando haya uniformidad de opiniones sobre este punto, se comprenderá mucho mejor, sin duda, el porqué un virus disminuye en fuerza cuando las bacterias se multiplican. Una parte de la energia del virus consiste cabalmente en su paso del estado de gérmen al estado de organismo definido.»

En sus investigaciones, Tyndall procedió siempre á operar sobre infusiones puramente líquidas, excluyendo de intento las materias tales como la leche, las mezclas de jugo de nabo y queso, etc., en una palabra, todo compuesto de líquidos y sólidos.

Debemos aquí hacer gloriosa mencion del reverendo W. H. Dallinger, que con su colega Drysdale es muy conocido por haber elevado el microscopio al grado extremo de perfeccion que tiene actualmente. Sus *Researches into the Life-History of the monads* son modelos de exactitud en preparaciones científicas. El estudio de Dallinger sobre el estado actual de la doctrina de la generacion espontánea, sus observaciones acerca de la relacion entre los gérmenes de las bacterias y el poder aumentativo del microscopio, su demostracion de que los gérmenes de las mónadas sobreviven en un medio ambiente elevado á una temperatura que destruye el adulto, y que las partículas de almáciga precipitadas, semejantes siempre á las ya mencionadas en el párrafo 16 de este libro, no pueden distinguirse ni aun con un poder aumentativo de 15,000 diámetros, y las cuales constituyen una de las comunicaciones más curiosas é importantes.

§ 29

Accion de las bacterias sobre un rayo luminoso.

Para seguir el crecimiento gradual y la multiplicacion de las bacterias por su accion sobre un rayo luminoso, preparóse una infusion de carne de vaca el 5 de octubre de 1875, colocado en un frasco esférico de un volúmen de 15 pulgadas cúbicas y abandonado al aire ordinario. Los dias 8, 9, 10, 11 y 12 preparáronse otros frascos semejantes y se colocaron al lado uno de otro. El dia 12 se examinaron todos al rayo eléctrico concentrado. El frasco más reciente mostró el paso del rayo, como un cono ricamente colorado de verde. Esta luz verde no fué modificada por la accion de un prisma de Nicol, que sin embargo, apagaba la luz ordinaria dispersa y aumentaba así la fuerza y la vivacidad del color verde. Era un caso de fluorescencia.

En el segundo frasco, más antiguo de un dia, el rayo fluorescente estaba en gran parte modificado ó velado por la luz dispersa; pero ésta pudo extinguirse parcialmente con un prisma de Nicol, encontrándose así casi restablecida la pureza de la fluorescencia. A través del tercer frasco que tenia dos dias, y á través del cuarto que tenia tres dias más, el paso del rayo era todavia visible; á través del quinto estaba completamente obliterado, mientras que á través del sexto estaba enteramente roto y obstruido, por estar el medio ambiente turbio uniformemente lleno de la luz lateralmente dispersada.

Dos frascos de esta série eran de color amarillento verde brillante, dos lechosos ó blanquecinos y otros dos de un color pardo oscuro.

Cohn menciona el color azulado de la infusion por reflexion y su tinte amarillento por la luz transmitida cuando encierra bacteria. Esto se debe á una accion dicroítica análoga á la que produce el color azul del cielo, así como el color del rosicler por la madrugada y en el crepúsculo vespertino. Sin embargo, aunque notable el color azul, no es muy pronunciado, porque las bacterias son demasiado grandes para dispersar la luz á tan alto grado de pureza; mas con una infusion fangosa puede obtenerse un hermosísimo color rojo por medio de la luz transmitida; pues se ha utilizado varias veces la turbidez bactérica para experimentos fosométricos. Para imitar una atmósfera brumosa Tyndall empleó una infusion que las bacterias habian vuelto nebulosa. El rayo de luz puede de este modo debilitarse gradualmente hasta extinguirse.

§ 30

Fluorescencia de las infusiones.

Todas las infusiones animales, carne ó pescado, demuestran la misma fluorescencia: el mismo tinte verde al trasluz, aunque á diversos grados de intensidad. Con el pato silvestre, el gallo, la chocha, la liebre, la perdiz y el faisán, la fluorescencia es hermosa, algunas veces extraordinariamente hermosa. En el conejo se nota menos bella que en la liebre, y en el conejo casero menos bonita que en el conejo de monte. Tambien los peces difieren entre sí. El mujol, por ejemplo, es más bello que el bacalao, el arenque ó el gado. La carne de vaca, de carnero, el corazon, el hígado, ostentan una fluorescencia igualmente verde.

Impulsado á estas observaciones despues de una série de experimentos notables sobre el paso de las sustancias cristalizadas en los tejidos vasculares ó no vasculares del cuerpo, los doctores Bence Jones y Dupré, comunicaron en 1867 á la Sociedad Real una memoria interesante por extremo, titulada *On a fluorescent substance, resembling quinine, in Animals*. Con tal motivo, demostraron que puede extraerse de todos los tejidos del hombre y de los animales, una sustancia fluorescente que presenta la más estrecha semejanza con la quinina, bajo el punto de vista químico, lo mismo que bajo el óptico. Llamáronla por consiguiente, quinoidina animal y encontraron que en solucion diluida, la fluorescencia producida por la sustancia animal no podia distinguirse de la producida por la quinina. Por lo contrario, en las soluciones concentradas, el color de la luz era declaradamente verdoso. Esa última observacion concuerda perfectamente con las hechas por el doctor cuyos principales experimentos vamos consignando con preferencia, en este libro. En todos las infusiones examinadas por Tyndall la luz fluoresciente era claramente verde y no podia confundirse con la luz azul de la quinina.

El color verde es semejante al emitido por el cristalino cuando la invade un haz de luz violado (1); y si se envia un rayo tal de luz á través de una infusion cualquiera, la degradacion del color violado; ó morado, ó verde, se vé de una manera notabilísima.

Las observaciones que anteceden se refieren á las infusiones cocidas y filtradas. Antes de someterlas á la ebullicion, algunas de ellas eran de un color rojo brillante; pero aun entonces, cuando la capa de líquido interpuesta entre el ojo y el rayo de luz, no era muy densa, la fluorescencia verde podia ser vista á través del líquido rojo.

---

(1) Sumergiendo el ojo en el rayo luminoso de la lámpara eléctrica, transmitido á través de un vidrio verde, se vé el cristalino con un tinte azul por otro observador sobre cuyo ojo cae el rayo luminoso. Por lo que interesa á estas observaciones Tyndall ha comprobado varias veces dicho fenómeno.

CAPÍTULO III

NUEVAS INVESTIGACIONES ACERCA LA NATURALEZA Y LA VITALIDAD DE LOS ORGANISMOS DE LA PUTREFACCION

§ 1

Introduccion.

El 13 de enero de 1876, Tyndall tuvo el honor de someter á la Sociedad Real algunos resultados de una de sus importantes investigaciones, durante la cual el poder de produccion de la vida mostróse unido en la atmósfera, al de dispersion de la luz. Probó que dicha dispersion era debida no precisamente al aire atmosférico, sino á las materias extrañas contenidas en él. Demostró además que acondicionando el aire convenientemente se le puede someter á un trabajo de *sal-purificacion* que dé por resultado privarle del poder de dispersar la luz, á la vez que del de engendrar la vida.

La forma de las experiencias de que se trata, puede resumirse de la manera siguiente: se construyeron dos cámaras de madera con sus fachadas acristaladas, ventanas laterales y puertas traseras. En el fondo, á través de las cámaras, se suspendieron los tubos de ensayo con sus extremidades abiertas; habria unos cinco tubos aproximadamente. Se dispuso todo convenientemente para poner en conexion al aire interior con el atmosférico, por medio de unos conductos sinuosos.

Estando las cámaras herméticamente cerradas, se dejaron en reposo durante algunos dias. Las materias flotantes del aire interior se depositaban gradualmente, hasta que un rayo luminoso fuertemente concentrado permitió observar, á través de la cámara, que no quedaba ya rastro alguno de ellas en el espacio interior. Entonces, y solamente entonces se introdujeron las infusiones por medio de una pipeta que se pasó á través del techo de la cámara. Despues de su introduccion, se hirvieron en un baño de aceite, ó en una solucion salina (1), durante cinco minutos y se dejaron seguidamente en una cámara caliente.

El dibujo que representa la fig. 11, tomado

(1) De que estuviesen calentados en un baño de aceite ó en una solucion salina, el profesor Cohn ha deducido equivocadamente que dichas infusiones estaban elevadas de por sí más allá de su punto de ebullicion. Estando abiertos los tubos, la temperatura es, por consiguiente, independiente de la causa que la provoca.

del modelo que usó en sus procedimientos la Institucion Real, muestra una de las citadas cámaras con seis tubos de ensayo, sus ventanas laterales *w w*, la pipeta *c*, y los tubos plegados *a b*, que ponen en conexion el aire de la cámara con la atmósfera del exterior.

Haciendo uso de más de cincuenta cámaras construïdas de la propia manera que indica la figura á que nos hemos referido, y las cuales fueron utilizadas muchas veces, se probó que una infusion esterilizada puesta en contacto con el aire ópticamente puro, quedaba sin excepcion alguna estéril. Nunca la infusion dió la menor señal de vida, aunque no podamos darnos satisfactoria explicacion de este fenómeno.

Así quedó demostrado que la esterilidad observada no era debida á una falta de poder nutritivo de la infusion. El contacto de las materias en suspension con las infusiones iba seguido invariablemente del desarrollo de la vida. Numerosos ejemplos de semejantes resultados se ofrecieron á los miembros de la Sociedad Real en la reunion del 13 de enero de 1876.

Antes de esta fecha se habia excitado el interés del público, y hasta podemos añadir que habia tomado consistencia una gran incertidumbre científica en Inglaterra y los Estados Unidos á la vez, por efecto de los escritos del doctor Bastian. Estos escritos contenian consideraciones y reflexiones teóricas que no eran nuevas, si bien que á veces sostenidas con mucha elocuencia y basadas en la doctrina de la evolucion. A la vez incluian una crítica muy enérgica con respecto á los que creyendo en la doctrina de la evolucion, no admitian todo el programa del autor (1). Pasando por alto esas teorias y críticas, creemos que seria conveniente someter los hechos bien comprobados, que son la base del doctor Bastian, á la sancion de la experiencia estricta y minuciosa.

Ahora bien, él afirmaba que «las infusiones de nabo ó de heno cocidas y expuestas al aire ordinario, al aire filtrado, al aire cálido ó puestas al abrigo del contacto del aire, son más ó menos aptas para producir infinidad de bacterias y vibriones en el espacio de dos á seis dias.» Procedióse en consecuencia á repetir sus experimentos con el aire calcinado, el aire filtrado y al abrigo del aire, y no se pudo comprobar ó descubrir esa aptitud á desarrollar las formas vivientes. Afirmó igualmente que en varias infusiones de músculos, riñones ó de hígado colocadas «en frascos cuyo cuello se habia estirado y estrechado con la llama del soplete, cocidas y cerradas durante la ebullicion y conservadas en un sitio caliente, pululaban despues de diversos períodos de tiempo bacterias y organismos aliados (1).» Pero el doctor Tyndall se sirvió de frascos idénticos á los que Bastian recomendaba, empleando infusiones de pescado, volateria y vísceras, y el mencionado dia 13 de enero pudo presentar á los individuos de la Sociedad Real ciento treinta frascos, cada uno de los cuales era la negacion del precitado aserto.

Sin embargo, suscitáronse dos objeciones contra los resultados del doctor Tyndall. Se sostuvo que sus infusiones no eran suficientemente concentradas ni las temperaturas bastante elevadas. Pero esas dos objeciones quedaron destruidas por la circunstancia de que cuarenta y ocho horas de exposicion al aire ordinario en idénticas condiciones bastaban para llenar de vida las mismas infusiones. Además, podia probarse que las temperaturas empleadas por Tyndall eran cabalmente las mismas que antes se habian señalado como las más eficaces por Bastian. Otras temperaturas más elevadas que ninguna de las empleadas hasta entonces, se indicó luego como seguras para la generacion espontánea; pero á ellas expuso Tyndall sus infusiones, y quedaron estériles como siempre.

Por otra parte, en lo tocante á la concentracion se demostró que en presencia de su evaporacion gradual las infusiones hechas por Tyndall no eran probabilísimamente igualadas en fuerza por ninguna de las empleadas por los otros observadores. Algunas infusio-

(1) Véase *Evolution and the Origin of Life*, páginas 168 y 169.

(1) *Transactions of the Pathological Society*, 1875, página 272.

nes de entre las ya citadas se habian concentrado durante unos doce meses de evaporacion lenta, reduciéndolas á una quinta parte de su volúmen primitivo, demostrando aún entonces una pureza igual á la del agua destilada.

Tales resultados no pueden dejar la menor duda de que en las condiciones atmosféricas existentes en el laboratorio del Instituto Real, durante el otoño, el invierno y la primavera de 1875-76, cinco minutos bastan para esterilizar los líquidos orgánicos de toda especie. Una vez esterilizadas debidamente y protegidas luego del contacto de las materias que el aire tiene en suspension, ninguna de las infusiones putrescibles manifestó jamás el poder de engendrar la vida por su propia energia.

§ 2

Experimentos de Pasteur, Roberts y Cohn.

Durante las investigaciones que llevamos expuestas, Tyndall se habia limitado á emplear infusiones animales ó vegetales en estado natural, es decir, extractos obtenidos por medio del agua destilada sin hacerlos artificialmente ácidos, neutros ó alcalinos. Tuvo, sin embargo, ocasion de repetir entre otros algunos experimentos muy notables sobre las infusiones de heno neutralizadas, descritas por el doctor Guillermo Roberts en su excelente memoria inserta en el *Philosophical Transactions,* de 1874. No pudo confirmar los resultados obtenidos por este sabio; puesto que mientras en las manos de Roberts, tales infusiones requerian á veces hasta tres horas de ebullicion para ser esterilizadas, en las suyas sucedia lo de las infusiones ordinarias quedando esterilizadas en cinco minutos. Mas no es del caso aquí reproducir esa discusion que ningun dato nuevo puede suministrarnos.

En su célebre memoria *Sobre los corpúsculos orgánicos que existen en la atmósfera,* Pasteur anunció ante todo, que mientras las infusiones ácidas tenian destruida su vida germinal á una temperalura de 100° C., era necesaria una temperatura más alta para producir el mismo efecto sobre las infusiones alcalinas. Es sus *Estudios sobre la cerveza* publicados en 1876, repitió y demostró esta afirmacion. Encontraba que los organismos que descomponen el vinagre quedan destruidos á la temperatura de 100° C. El vino se hizo inalterable á una temperatura algo más elevada. El mosto de cerveza, sin lúpulo, reclama una temperatura de 90° C. para quedar esterilizado, y la leche una temperatura de 100°. Los organismos de la orina reciente quedan destruidos á 100°, mientras que es necesaria una temperatura más elevada cuando la orina ha sido neutralizada por el carbonato de cal (1). La resistencia de la orina alcalinizada no es en modo alguno un descubrimiento nuevo (2).

En 1876 repitió el doctor Tyndall sus experimentos sobre las infusiones de heno alcalinizadas, y recibió poco despues, remitida por el profesor Cohn, de Breslau una memoria (3), que le despertó vivamente el deseo de examinar más minuciosamente la causa de sus divergencias con el doctor Roberts. El profesor Cohn es en resúmen del mismo parecer que éste sabio (4) por haber encontrado du-

---

(1) Estudios sobre la cerveza, pág. 34.

(2) Respecto á las reacciones diferentes de los líquidos alcalinos y ácidos, Tyndall dejó completamente á un lado la cuestion con el intento de removerla de una manera detallada tan pronto como hubiese publicado la primera parte de sus investigaciones. No podia comprender como quedan muertos los gérmenes en una solucion ácida, mientras sobreviven en un medio ambiente alcalino á igual temperatura; y tampoco podia admitir las explicaciones de Pasteur sin examinar nuevamente la cuestion. En las páginas siguientes se encontrarán numerosos experimentos y generalizaciones relativos al asunto.

(3) *Beiträge zur Biologie der Pflanzen,* julio de 1876.

(4) El profesor Cohn crítica al doctor Tyndall acerca de los tapones de uata, viendo que tales tapones le habian

rante varias séries de experimentos largos y variados hechos con infusiones de heno de diferentes clases, que cuando el período de ebullicion no pasa de quince minutos, aparecen invariablemente nuevos organismos en las infusiones tarde ó temprano; y segun él afirma, á veces fueron insuficientes para esterilizar las infusiones sesenta, ochenta y hasta cien minutos de ebullicion.

Sin embargo, hay una diferencia marcada entre el doctor Roberts y el profesor Cohn. El primero declara que cinco minutos de ebullicion bastan para esterilizar una infusion natural de heno, mientras que una, dos y hasta tres horas son insuficientes para esterilizar la infusion neutralizada; al paso que el segundo no indica diferencias de esta clase, y por lo contrario, encuentra que las infusiones ácida, y neutra, presentan idénticos caractéres de resistencia (1).

§ 3

Infusiones de heno. — Experimentos preliminares con tubos-pipetas.

El 27 de setiembre de 1876 se puso á digerir una cantidad de heno picado, por espacio de tres horas y media en agua destilada mantenida á la temperatura de 120° F. Retiróse luego la infusion, y su densidad llevada exactamente al punto indicado por Roberts, es decir, á 100° C. Entonces se la filtró ligeramente y se alcalinizó. Una especie de precipitacion se operó al añadir la potasa, y la infusion se hirvió durante cinco minutos para hacer completa dicha precipitacion. Entonces se la filtró de nuevo y se la introdujo en una série de frascos de igual forma y volúmen que los descritos por el doctor Roberts y que él llama *frascos tapados* (plugged-bulbs) (1).

Cada frasco era un cilindro de unas cuatro pulgadas de alto por una de diámetro con un cuello largo á uno de sus extremos, tal como demuestra la figura 12, A. Los dos tercios del cilindro (2) estaban ocupados por la infusion y despues de introducida el cuello del frasco se tapaba con una pelota de uata para cerrarlo en seguida herméticamente, segun demuestra la misma fig. 12, B. Sumergiéronse entonces los frascos en el agua, de manera que estuviesen cubiertos hasta el cuello todo. Elevóse gradualmente esa agua á su punto de ebullicion, en el cual se mantuvo por espacio de diez minutos. Retiráronse luego los frascos y se dejaron enfriar, despues de lo cual el extremo tapado de cada cuello fué destapado con auxilio de una lima, lo cual dió á las pipetas el aspecto de la fig. 12, C. Los frascos protegidos por los tapones de uata se expusieron por fin á una temperatura uniforme de unos 90° F.

Al propio tiempo se cargaron con idéntica infusion dos tubos semejantes, si bien con el cuello doblado y dirigido hácia abajo, como indica la fig. 13, estando tapada la porcion inclinada de modo que no pudiese caer ninguna impureza de la uata en el líquido. Estos dos frascos se pusieron á cocer por espacio de cinco minutos en un baño de aceite y provistos durante la ebullicion de un tapon de uata. Cerráronse luego más arriba de los tapones y se abandonaron al enfriamento, sien-

---

dado siempre magníficos resultados. Por lo tocante al método del doctor Roberts, escribe: «El defecto de este método consiste en la dificultad de proteger la uata contra la humedad accidental producida por la infusion. Además, el vapor que se levanta del líquido, penetra en la uata y por su condensacion en el cuello del frasco ó tubo puede fácilmente cargarse de gérmenes.» En los experimentos sucesivos quedarán destruidas esas objeciones.

(1) Phil. Trans., tom. CLXIV, pág. 460.

(2) Les llamamos *frascos-pipetas* porque están formados de una pipeta á la cual se ha cerrado la punta, quedando abierto el otro extremo para introducirle la infusion.

(1) Ein constanter Unterschied in der Zeitdauer zwischen sauren und neutralen Aufgüssen, wie ihn Robert gefunden, trat in unseren Versuchen nicht hervor (*Beiträge*, p. 259).

do rotos despues los extremos cerrados al soplete.

El 30 de setiembre la infusion se hallaba tambien en todos los frascos de cuello recto, mientras que seguia siendo perfectamente clara en todos los tubos de cuello vuelto. El dia 26 de octubre habia aumentado la turbidez de los frascos de cuello recto, formándose una capa grasienta en la superficie del líquido. Los otros dos estaban en la misma fecha ligera, pero distintamente turbios.

La deduccion que de ese experimento debia sacarse era que ni en los frascos de cuello recto ni en los tubos de cuello doblado se habian matado completamente con la ebullicion los gérmenes de vida. La diferencia obtenida en los resultados era debida sin duda al modo de manipulacion empleado en cada caso. Cumple observar que cierta cantidad de aire con sus materias en suspension, se habia quedado encerrada encima de la infusion en cada tubo de cuello recto; mientras que en los tubos de cuello vuelto este aire se habia desalojado en parte por efecto del vapor, reemplazándolo otro filtrado á través del tapon de uata.

A esa diferencia, pues, de tratamiento ha de atribuirse la diferencia en los resultados. En contra de la densa nebulosidad de los tubos vecinos, la turbidez de los frascos de cuello doblado, aunque distinta, era mucho menos notable y en ninguno de ellos se pudo observar el disco superficial mencionado de los otros.

Examinados microscópicamente los frascos de cuello recto, se encontraron plagados de vibriones, muchos de los cuales estaban rotos por el centro con tendencia á separarse ambas partes. Habia, además, numerosas bacterias pequeñas muy activas y de longitudes diversas. En los frascos de cuello vuelto se encontraron bacterias en extremo pequeñas, pero ningun vibrion.

La manera de proceder de la infusion de heno en esta circunstancia corrobora los resultados del doctor Roberts y del profesor Cohn.

El dia 2 de octubre se preparó otra infusion de heno y despues de neutralizada con la potasa cáustica introdújose en seis frascos de pipetas de cuello recto. Obliterados primeramente los cuellos con un tapon de uata, cerráronse despues al soplete y las infusiones se sometieron durante diez minutos á la temperatura del agua hirviendo. Luego se destaparon los extremos así cerrados y se dejaron los tubos, lo mismo que antes, á la temperatura de 90° F.

Otros seis frascos se cargaron al propio tiempo con la misma infusion; pero en vez de cerrarlos herméticamente, se les colocó en un baño de aceite haciéndolos cocer durante cinco minutos. Antes de terminada la ebullicion se tapó con uata el cuello de cada uno de los tubos.

Hasta el dia 6 de octubre todos los tubos siguieron siendo claros, salvo uno de la última série que se volvió turbio de color más pálido que sus vecinos y se cubrió de un disco grasiento. El dia 7 un tubo del primer grupo que habia hervido segun el método de Roberts, se enturbió igualmente ostentando la misma capa grasienta superficial. Los otros diez tubos conservaron su tinte pardo oscuro del Jerez, su perfecta transparencia y una falta absoluta de bacterias. Seis meses despues de su preparacion se mantenian tan claros como el primer dia.

En la gran mayoria de tales experimentos la práctica de las infusiones de heno alcalinizadas contradice los hechos observados por el Dr. Roberts y el profesor Cohn.

Otros seis frascos de pipeta con el cuello doblado y provisto de uata y asbesto, de manera que impidiese completamente que las impurezas al desprenderse del tapon pudiesen caer en la infusion, fueron igualmente cargadas el dia 2 de octubre. Tres de los tubos cuyo cuello estaba herméticamente cerrado se sometieron durante diez minutos á la temperaturu del agua hirviendo, y luego se destaparon los extremos cerrados al soplete. Los otros tres frascos se pusieron á cocer en un baño de aceite teniendo sus cuellos obliterados con un tapon antes de que la ebullicion terminara. Los seis frascos permanecieron perfectamente transparentes por espacio de seis ó más meses.

Tambien aquí hay discordancia entre los resultados obtenidos por el Dr. Tyndall y los

obtenidos por el Dr. Roberts y el profesor Cohn.

Pero el dia 6 de octubre se preparó y neutralizó otra infusion exactamente de la misma manera que antes y cinco frascos-pipetas se cargaron cerrándolos herméticamente y manteniéndolos á la temperatura de la ebullicion durante diez minutos. Los extremos cerrados al soplete se rompieron en seguida dejando los frascos expuestos á una temperatura de 90° F. A la mañana del dia 8, ó sea dos dias despues de preparados, la infusion estaba turbia en todos los frascos y cubierta de espuma.

Aquí notamos la más perfecta armonía entre los resultados del Dr. Tyndall y los del Dr. Roberts y del profesor Cohn.

Además el mismo dia 2 de octubre se cargaron con una infusion neutra de heno catorce frascos ordinarios con el cuello doblado, tal como indica la figura 6. Sometiéronse á la ebullicion durante tres minutos cerrándolos herméticamente durante la misma. Algunos dias despues uno de los tubos se habia vuelto de un color más pálido y notablemente nebuloso. Pero trece de los catorce conservaron su color manteniendo su brillante transparencia sin contener la menor bacteria ni gérmen de vida.

Aquí la divergencia entre esos resultados y los del Dr. Roberts y del profesor Cohn, que tambien hicieron experimentos con los mismos frascos reaparece en toda su importancia.

Otros numerosos experimentos se hicieron por la época mencionada, con frascos pipetas y tubos ordinarios, pero es inútil indicarlos aquí, por cuanto bastará decir que lo propio que en los casos que acabamos de describir algunos corroboran los resultados del Dr. Roberts y del profesor Cohn, mientras que muchos más los contradicen.

§ 4

Infusion de heno. — Experimentos con los tubos de Cohn.

Por razones que él explica (1) el profesor Cohn se aparta del método experimental del Dr. Roberts y en vez de frascos-pipetas emplea frascos cuya naturaleza se comprenderá fácilmente por la descripcion que sigue. Supongamos que el tercio medio de un tubo de ensayos ordinario sea reblandecido por el calor y luego estirado de manera que forme un tubo mucho más estrecho que el tubo de ensayos primitivo. Así modificado este último consistirá en un frasco prolongado por debajo y un embudo abierto por arriba, estando los dos reunidos por un estrecho canal (fig. 14).

El profesor Cohn llena el frasco prolongado próximamente en los dos tercios de su volúmen, con infusion de heno, sumerge esa parte del tubo en el agua, que eleva á la ebullicion y la hace continuar durante un tiempo determinado. Retíranse entonces los tubos del baño, y despues de tenerlos abiertos para permitir que el agua condensada en sus cuellos se evapore, se tapaba el embudo por medio de un tapon de uata.

El profesor Cohn cree que es imposible en este sistema toda entrada del aire exterior. El Dr. Tyndall quiso comprobar los resultados antes descritos insiguiendo el mismo método de este profesor, y de consiguiente el dia 24 de octubre cargó cuidadosamente cuatro grupos de tubos de Cohn (doce en cada grupo) con infusiones recientes de diversas partes iguales, una que se neutralizó y otra que se dejó en su condicion ácida natural. Doce tubos se cargaron con la infusion neutralizada y doce con la infusion ordinaria. Designaremos con la letra A esta infusion. Cargáronse otros doce tubos con la segunda infusion neutralizada y doce con la infusion ácida. Indicaremos esta infusion con la B. Pusiéronse acto continuo á hervir los cuarenta y ocho tubos durante diez minutos en vasos de estaño que contenian agua suficiente para cubrirlos. Ha-

(1) *Beiträge*, julio de 1876.

biéndose demostrado por anteriores experimentos que era peligroso exponer las infusiones al aire aunque sólo fuese por uno ó dos minutos, á su salida del agua, se tomó la precaucion de taparlos primeramente y retirarlos poco despues.

El 28 de octubre, ó sea cuatro dias despues de su preparacion, varios de los tubos que contenian la infusion A, natural estaban ligera pero distintamente turbios y muy cubiertos de espuma. Los doce tubos de la misma infusion neutralizada se hallaban en esta fecha perfectamente claros. Esta influencia demoradora del alcalí se presentó con frecuencia durante el curso de los experimentos. Y que esto era simplemente un caso de retraso, quedó probado por la circunstancia de encontrarse en 30 de octubre los veinticuatro tubos, es decir, el grupo neutro y el ácido, de la infusion A turbios y cubiertos de espuma.

Por la misma fecha los doce tubos neutralizados de la infusion B estaban perfectamente claros y sin el menor indicio de espuma. De los doce frascos ordinarios habia tres atacados y otro cedió el dia 31. Cuatro dias despues tres tubos neutralizados fueron igualmente atacados. En suma, ocho de los veinticuatro tubos cargados con la infusion B se habian enturbiado, mientras que los otros dieciseis quedaron perfectamente claros. No puede dudarse que la infeccion proviene aquí de la accion del aire exterior, pues su contacto es casi imposible de evitar en este sistema de experimentacion.

En este caso, mientras que la infusion A *dá la razon al profesor Cohn, la infusion* B *le contradice.*

§ 5

Infusiones de heno en vasos cerrados.

El dia 30 de octubre de 1876 el Dr. Tyndall, sin dejar de trabajar en las infusiones de heno conforme se acaba de indicar, tuvo la idea de servirse de un método de experimentacion que habia practicado ya el año anterior, y que consistia en emplear cámaras herméticamente cerradas en que se habia hecho que el aire se purificase con el reposo.

Dos de esas cámaras, pues, se dotaron de tres grandes tubos de ensayo cada una y se cargaron con una mism infusion de heno preparada conforme las prescripciones del doctor Roberts. La densidad era de 1,006; la solucion se habia alcalinizado con la potasa cáustica; pero el período de ebullicion en vez de durar tres horas, fué únicamente de cinco minutos.

Examinada de vez en cuando la infusion durante más de cuatro meses se mantuvo siempre tan clara y brillante como el dia de su introduccion en los frascos: estaba libre completamente de materias en suspension y libre tambien de todo indicio de espuma ostentando con la luz que pasaba á través de ella una notable transparencia.

Así, pues, un período de ebullicion que apenas alcanzaba la vigésima parte de la exigida por el doctor Roberts, bastó en este caso para destruir totalmente el poder de engendrar la vida en una infusion de heno alcalinizada.

Ese resultado está en perfecta armonia con todas las observaciones hechas por Tyndall en el curso del año indicado. Cámaras y más cámaras se guarnecieron de infusiones de heno que se sometian acto seguido á la temperatura de la ebullicion por espacio de cinco minutos; y siempre quedó la infusion perfectamente clara hasta que de intento se la infeccionó con el aire exterior. Y en toda la multitud de experimentos que practicó durante todo aquel año, no pudo Tyndall observar un solo caso en que una ebullicion de cinco minutos hubiese sido insuficiente para esterilizar tal infusion de heno neutralizada ó no.

Así, por ejemplo, el 26 de noviembre de 1875, un grupo de tres tubos de ensayos se cargó con una infusion de heno del mismo grado de densidad y alcalinidad que el de las soluciones que el doctor Roberts señalaba como más resistentes. Los tubos estaban protegidos por las campanas de cristal, cuyo aire se habia calcinado con un alambre incandescente de la manera descrita en el precedente ensayo. Se sometieron á la ebullicion durante cinco minutos y la entrada del aire ordinario se impidió por medio de un tapon de uata. Trece meses despues, la infusion, fuertemente concentrada con la evaporacion, ostentaba todavia la más perfecta transparencia. Otro grupo semejante de tubos se cargó con una infusion de heno alcalinizada el 27 de enero siguiente, y el 5 de diciembre, es decir, despues de un período de más de seis meses, la infusion estaba aún completamente clara.

Cierto número de tubos herméticamente cerrados que se cargaron con la misma infusion y que solamente se hicieron hervir durante tres minutos, conservaron más de un año su primitiva transparencia y el choque del martillo de agua, ó sea la prueba de su absoluta falta de putrefaccion. Y por lo tanto, gran número de los experimentos de 1875 estuvieron en concordancia absoluta con la totalidad de los practicados el año siguiente, ó sea el de las pruebas definitivas.

Verdad es que esta concordancia pareció contrariada por algunos experimentos hechos con los frascos-pipetas y los tubos ordinarios, y luego despues por los resultados obtenidos con auxílio de las cámaras herméticamente cerradas.

Así, por ejemplo, el dia 26 de noviembre de 1876 se preparó una infusion de heno exactamente de la misma manera que el dia 3, siendo de la misma densidad, de la misma alcalinidad y se introdujo igualmente en una cámara de tres tubos. Pero aunque la infusion del 3 permaneció intacta durante meses enteros y sin duda se habria conservado indefinidamente, no habia transcurrido una semana sin que todos los tubos de la nueva infusion se enturbiasen y cubriesen de espuma grasienta.

Esta discrepancia puede atribuirse á un incidente fortuito ó defecto en la práctica que no se hubiese advertido.

§ 6

Desecacion de los gérmenes. — Heno fresco y heno viejo.

En su obra intitulada *Evolution and the Origin of Life*, el doctor Bastian repite varias veces que la materia viviente es incapaz de mantener su vida, cuando está expuesta á una temperatura que no llegue siquiera al calor del agua hirviendo. Se refiere especialmente á la accion del agua hirviendo sobre los huevos y á otros efectos destructivos. Recuerda igualmente los experimentos de Spallanzani sobre los cereales, y extiende los resultados obtenidos en estos casos especiales á la materia viviente en general. «Se ha demostrado, escribe en la pág. 46 de dicha obra, y es una opinion admitida por todos los biologistas, que la influencia del agua hirviendo (212° F.) aun con el período más corto de tiempo, destruye toda materia viviente.»

Hace algunos años que respecto al particular hicieron los tratantes en lana, de Elbeuf una observacion extremadamente significativa. Habitualmente recibian del Brasil vellones sin lavar, y entre las materias extrañas mezcladas con la lana se encontraban semillas de cierta planta denominada *Medicago*. Ahora bien, los desengrasadores de la lana encontraron reiteradas veces que dichas semillas germinaban aún despues de una ebullicion de cuatro horas, y algunos años despues el señor Pouchet repitió y comprobó el experimento. Reunió un número de semillas, las

puso á cocer durante cuatro horas y las sembró luego en un terreno preparado al efecto. Con gran asombro vió que germinaban á su debido tiempo. Examinó entonces más cuidadosamente las semillas cocidas y encontró que muchas se hallaban hinchadas y desorganizadas; pero en medio de estas semillas destruidas encontró otras que habian resistido al agua, á la hinchazon y á la rotura. Las retiró para sembrarlas separadamente de las otras en un terreno distante pero de igual naturaleza al que se empleaba para las demás. Las semillas hinchadas no germinaron mientras que las inalteradas dieron rápidamente orígen á una planta. Era el único caso de resistencia conocido por el sabio Pouchet cuando lo comunicó á la Academia de ciencias de París.

La observacion aquí descrita está explicada por extenso en las *Memorias* del año 1866, tom. LXIII, pág. 939. Pero no es difícil comprender que la superficie de una semilla ó de un gérmen puede estar afectada por la desecacion ó por cualquier otra causa, de manera que sea prácticamente insensible á la accion del líquido que la rodea (1). El cuerpo del gérmen puede además estar tan endurecido por la sequedad ó por el tiempo que resiste victoriosamente á la introduccion del agua entre sus moléculas constituyentes. No seria fácil producir la humedad necesaria para empapar ese gérmen y causar la hinchazon y el reblandecimiento que proceden á su destruccion en un líquido calentado á una temperatura elevada.

En sus experimentos posteriores Tyndall notó que en todos los casos en que bastaron cinco minutos para esterilizar las infusiones, el heno procedia sin excepcion de la cosecha reciente, mientras que las infusiones que se putrificaron provenian de heno viejo cosechado el año anterior ó antes.

Aun se indicó más claramente esa distincion entre el heno nuevo y el heno viejo en otros experimentos que se practicaron en comprobacion. Sin embargo, los resultados fueron en adelante atenuados por circunstancias que requieren tiempo y trabajo, y además exigen mucha paciencia de parte del lector que quiere seguirlos cuidadosamente. Mas sea como fuere estas observaciones echarán nueva luz sobre el carácter real de las investigaciones del citado doctor y harán más para reconciliar las discordancias á las cuales dió nacimiento la generacion espontánea, que si cada experimento hubiese tenido un éxito enteramente libre de toda duda.

§ 7

Infusiones de heno. — Nuevos experimentos con las cámaras herméticamente cerradas.

Con el fin de examinar á fondo la cuestion del endurecimiento y desecacion, emprendió Tyndall una série extensa de experimentos con las cámaras herméticamente cerradas. Empleó tres clases de heno: 1.° Heno viejo que le envió lord Claudio Hamilton de Heathfield, Sussex; 2.° Heno reciente del mismo punto (los dos eran de un terreno bastante ingrato); 3.° Heno nuevo comprado en Lóndres y secado artificialmente durante algunos dias en un baño de arena. Preparáronse once cámaras herméticamente cerradas para practicar esos experimentos; y el dia 6 de octubre de 1876, se les introdujeron las infusiones dispuestas que se pusieron á cocer en seguida por espacio de cinco minutos.

Consagráronse dos cámaras á la infusion del heno viejo alcalinizado y dos á la misma infusion ácida; otras dos cámaras á las infu-

(1) Merece citarse aquí como refiriéndose directamente á nuestro asunto, la siguiente observacion relativa á la resistencia especial de los vegetales verdes á la esterilizacion «La resistencia singular de los vegetales verdes á la esterilizacion, dice el doctor Roberts, parece debida á la propiedad de la superficie, tal vez á su epidérmis lisa y resbaladiza que impide penetrar la humedad.»

siones alcalinas y dos á las infusiones ácidas del heno secado. Y por último, otras dos á la solucion alcalinizada y una á la infusion natural ácida del heno reciente de Heathfield. Examinadas dia por dia, se observaron muy pronto diferencias, no solamente entre las diferentes infusiones sino tambien entre las diferentes cámaras que contenian la misma infusion. Por ejemplo, todos los tubos de las dos cámaras que contenian la infusion neutralizada de heno viejo se enturbiaron, mientras que los tres tubos de una de ellas se cargaron en cuatro dias de una espuma grasienta, y al paso que los tubos de la otra permanecieron durante diez dias, libres de ese producto.

Las dos cámaras que contenian la infusion ácida de heno viejo mostraron las mismas divergencias: sus tubos se pusieron turbios; pero en una de las cámaras las infusiones no se cubrieron de espuma, en tanto que en la otra los tres tubos se cargaron fuertemente.

Las dos cámaras que encerraban la infusion alcalinizada del heno comprado en Lóndres y que se habia desecado, tenian igualmente todos sus tubos turbios y cubiertos de espuma. En el caso de la infusion ácida de heno secado, los tubos de una de las cámaras se volvieron turbios, mientras que los tubos de la otra se conservaron claros.

Y las dos cámaras que tenian la infusion alcalinizada hecha con el heno reciente de Heathfield dieron tambien opuestos resultados. En una de las cámaras los tres tubos se volvieron turbios y se cubrieron de espuma al paso que en el otro quedaron sensiblemente inalterados. Los tres tubos de la única cámara cargada con infusion ácida del heno fresco de Heathfield no presentaron tampoco tal apariencia; porque al tiempo que un tubo se volvió sumamente turbio, los otros dos quedaron transparentes por completo.

En medio de esa confusion el único punto digno de llamar nuestra atencion es que mientras que no se presentó caso alguno de preservacion con las infusiones de heno viejo, ya fuese ácido, ya neutro, con las infusiones de heno reciente, secado ó no, quedaron estériles varios tubos.

Si reflexionamos acerca de esos resultados quizás sospecharemos del perfecto cierre de las cámaras, las cuales, además, como habian ya servido, por más que se las limpiase cuidadosamente, podia encontrarse en ellas algun orígen de infeccion que hubiese escapado al observador. En todo caso esta parecia la manera más racional de interpretar las diferencias entre las muestras de una misma infusion colocadas en distintas cámaras, de donde provino la conveniencia de exponer una nueva série de infusiones en cámaras que no hubiesen servido todavia.

Al efecto se construyeron seis nuevas cajas, cada una de las cuales debia contener seis tubos. El dia 3 de noviembre se cargaron con infusiones de heno viejo de Lóndres, de heno viejo de Heathfield, de heno reciente de Lóndres y de heno secado de la misma localidad. Consagráronse dos cámaras á cada infusion, en una de las cuales se colocaba la solucion natural y en la otra la solucion neutralizada.

Dispusiéronse los seis tubos de cada cámara en dos séries de tres tubos cada una. Designaremos con el nombre de *tubos de delante* los más cercanos á la fachada vidriera, y con el nombre de *tubos de detrás* los otros. La infusion destinada á la cámara natural no se coció antes de introducirla en los tres tubos de detrás, sino que por lo contrario se coció metida en los tubos por espacio de cinco minutos. La infusion destinada á los tubos de delante se coció durante quince minutos antes de introducirla y por espacio de cinco minutos despues.

Esas diferencias en el modo y duracion de la cochura fueron adoptadas para determinar si tenian alguna influencia en el desarrollo subsiguiente de la vida. Para las cámaras neutralizadas la infusion se hizo hervir para los tres tubos de detrás durante quince minutos fuera de la cámara y antes de la neutralizacion y cinco minutos en la cámara despues de la neutralizacion. Para los tres tubos de delante, la infusion se coció durante quince minutos fuera despues de la neutralizacion y luego cinco minutos dentro de la cámara. Si la potasa empleada para la neutralizacion aportaba gérmenes á la infusion, la diferencia entre cinco y veinte minutos en el período de la ebullicion podria haberse manifestado en los fenómenos subsiguientes.

Cuatro dias despues de introducida la infusion ácida del heno viejo de Heathfield se vió turbia y cubierta de espuma grasienta. La espuma y la turbidez eran sensiblemente las mismas en todos los tubos, aunque el período de ebullicion hubiese variado de cinco á veinte minutos. Aquel mismo dia la infusion neutralizada del mismo heno era perfectamente brillante y carecia de espuma. Sin embargo, tres dias despues volviéronse igualmente turbios y cubriéronse de espuma los tubos neutralizados.

Lo que debe notarse aquí sobre todo, es que ni en la cámara neutra, ni en la cámara ácida, ningun tubo de la infusion de heno viejo de Heathfield mantuvo su limpidez, ni se conservó libre de espuma.

El heno viejo de Lóndres siguió esencialmente la misma marcha que el heno viejo de Heathfield; ningun tubo se vió libre de infeccion ya fuese en las cámaras neutralizadas, ya en las cámaras ácidas.

Una semana despues de introducido el heno de Lóndres, todos los tubos que contenian la infusion ácida estaban turbios y cubiertos de espuma. En cambio, en la cámara neutralizada solamente dos tubos de detrás habian cedido y el otro así como los tres tubos de delante se conservaron claros.

Además, el dia 3 de noviembre otra cámara de seis tubos se cargó con una infusion de heno de Lóndres. Tres de los tubos se neutralizaron y tres se dejaron en su estado natural. Introdujéronse las dos clases de infusiones en la cámara antes de ser cocidas, y sometiéronse entonces á la ebullicion durante cinco minutos. En el curso de una semana cedieron todos los tubos poniéndose turbios por igual y cubriéndose con la misma cantidad de espuma. La circunstancia de estar preparadas con heno reciente, no fué bastante para asegurar la esterilidad de las infusiones.

Impelido por las sugestiones que le inspiraban sus experimentos, Tyndall emprendió otra série de trabajos análogos, y el 4 de noviembre mandó cargar con tres tubos cada una cuatro cámaras herméticamente cerradas, empleando infusiones de heno viejo y reciente de Heathfield (dos cámaras de cada clase de heno). Una cámara de cada par contenia una infusion de heno neutralizada y la otra una infusion natural: el tiempo de la ebullicion fué de diez minutos. Seis dias despues la infusion de heno reciente, neutralizado ó no, estaba perfectamente clara. Por otra parte, de las seis infusiones de heno viejo, una sola se libró de la alteracion. Los tres tubos ácidos se pusieron enteramente turbios, mientras que los dos de los tres neutralizados entraron igualmente en putrefaccion.

§ 8

Experimentos con heno mojado.

Reflexionando sobre la influencia de la desecacion y del endurecimiento, y comprendiendo la necesidad no sólo de humedecer los gérmenes sino tambien de empaparlos, tuvo el citado doctor la idea de tener en remojo el heno por espacio de varios dias, antes de ponerlo á digerir. Mandó al efecto picar heno viejo de Lóndres y colocarlo en tres vasos de cristal, uno de los cuales contenia agua destilada, otro agua asidulada y el tercero agua alcalinizada. El poder extractivo superior del líquido alcalino se manifestó desde el principio, pues presentó rápidamente un color oscuro. Siguió el agua destilada tomando un color menos oscuro que el del alcalí, pero, más sin embargo que el del agua acidificada.

Las infusiones en el agua destilada y en el agua alcalinizada exhalaban un fuerte olor de heno, al paso que el de la infusion ácida era muy débil y nada semejante al del heno.

El heno habia estado en remojo desde el 8 al 11 de noviembre. Se le hizo digerir luego por espacio de tres horas en el mismo líquido á la temperatura de 120° Fahr; después se le some-

tió á la ebullicion, se le filtró y se le introdujo en la cámara herméticamente cerrada, donde se coció nuevamente durante cinco minutos.

Antes de que el heno se pusiera á digerir en el líquido en que se habia remojado, pululaban las bacterias en dicho líquido, las cuales, como es natural, murieron por efecto de la ebullicion, más no quedaron enteramente separadas por la filtracion. Aunque filtrada varias veces la infusion alcalina, estaba bastante turbia para impedir que se viera al trasluz del tubo que la contenia el brillo de una vela encendida. Y lo mismo podia observarse si bien que en menor grado, con la infusion hecha en el agua destilada. Esta última se habia dividido en dos porciones, una de las cuales se neutralizó debidamente, dejándose la otra en estado natural. Cada una se encerró en una cámara distinta.

El único cambio observado, desde el 11 al 18 de noviembre, en todas las infusiones, fué un aumento de transparencia. Todas con el tiempo se iban poniendo más claras, mostrándose especialmente brillantes por arriba las infusiones hechas en el agua destilada.

Tras dos ó tres dias de reposo una llama colocada detrás de la infusion alcalina podia distinguirse al trasluz de un tinte rojo oscuro. La infusion acidulada permaneció inalterada por completo; mas no debe considerarse esto de grande importancia, porque, aun en el aire ordinario, esta infusion resistió la infeccion durante un tiempo considerable.

Nunca se observó en esta ocasion la espuma grasienta que antes se habia visto tantas veces en la superficie de los tubos. Algunas modificaciones funestas á los organismos particulares que producen dicha espuma habian debido producirse con el remojo del heno.

Examinadas con el microscopio el 18 de noviembre, aquellas infusiones mostraron pruebas irrecusables de vida bactérica; pues en ellas se encontraban estos pequeños séres en número considerable, pero más particularmente en el sedimento posado en el fondo de los tubos. No habia razon alguna para dudar de la presencia de la vida en tales infusiones, pero convenia prevenirse contra una consecuencia ó deduccion harto precipitada, haciendo cocer una infusion pululante de bacterias activas y sometiéndola al exámen microscópico. Tambien entonces se observó la forma de las bacterias muertas y era difícil distinguir sus movimientos, que por cierto eran movimientos brownianos, ó sea los mismos que se habian notado en las infusiones protegidas de heno remojado.

Repitióse el experimento, y de consiguiente el dia 16 de Noviembre se picó heno viejo y heno nuevo de Heathfield, así como del de una y otra clase de Lóndres. Se pusieron en una fuente con agua destilada, dejándolas remojar hasta el 18. Metiéronse en tubos y se trasladaron á una cámara situada en el piso alto de la Institucion Real. Allí se hicieron digerir las cuatro muestras durante tres horas á una temperatura de 120° Fahr. Filtráronse en seguida, se cocieron y volvieron á filtrarse, algunas hasta hacerlas pasar por cien hojas distintas de papel, despues de lo cual dichos tubos con sus tapones fueron introducidos en cuatro cámaras herméticamente cerradas á razon de seis tubos cada una y se les puso á cocer durante cinco minutos.

El 20 de noviembre parecia que las infusiones estaban libres de organismos en todas las cámaras tanto como en el dia de su introduccion. Las infusiones de heno reciente de Heathfield y de Lóndres ostentaban una columna turbia coronada con una zona excesivamente clara, debida, segun creia á la sazon Tyndall, á la separacion mecánica de las partículas; pero más tarde supo este doctor que dicho fenómeno no debia considerarse como un signo de vida.

Habia comenzado el 23 á reunirse en la superficie de todos los tubos espuma dentro de la cámara que contenia la infusion de heno viejo de Heathfield. El dia 30 continuó la indicada separacion, aun cuando no pudo encontrarse indicio de ella en las cámaras que encerraban los henos recientes de Heathfield y de Lóndres y el heno añejo de esta localidad. Todas estas infusiones se hallaban ligeramente turbias, si bien esa turbidez diferia muy poco de la observada en el acto de introducir el líquido en las cámaras.

Por mucho tiempo examinó Tyndall estas infusiones de heno remojado, ya con el microscopio, ya por otros medios científicos;

pero todas sus observaciones no añadieron materialmente ningun conocimiento á los que ya se tenian. Sólo pudo deducirse que su tendencia general era favorable á la idea de que la resistencia extraordinaria á la esterilizacion, manifestada por las infusiones de heno añejo es el resultado del endurecimiento y de la desecacion.

§ 9

Infusiones de setas.

Pero convenia estudiar las sustancias que cuando tienen gérmenes no puedan estos secarse, creyendo que semejantes infusiones no podrian resistir la temperatura de la ebullicion. Para probar la exactitud de esta creencia, se practicó el siguiente experimento: cogidas tres especies de setas (rojas, pardas y amarillas), se pusieron á digerir el dia siguiente. Cargáronse tres tubos de una cámara herméticamente cerrada que podia contener seis, con infusion de seta roja y otros tres con la de seta parda oscura, reservándose otra cámara de tres tubos para la especie amarilla. Todas estas infusiones se cocieron durante cinco minutos despues de introducirlas en sus cámaras respectivas.

Por espacio de dos ó tres dias siguieron claras, pero desde allí empezaron á inficionarse, enturbiándose cada uno de los tubos y hormigueando de organismos y cubriéndose de espuma.

Examinada con el microscopio el 8 de noviembre, la infusion de seta roja se encontró cargada con multitud de corpúsculos semejantes á esporos, que formaban masas compactas en ciertos sitios, mientras que en otros flotaban libremente por el líquido. Entre estos corrian largos filamentos cubiertos de un cabo á otro de manchas esporiformes; y además en uno de los tubos habia un número considerable de vibriones.

La infusion de seta oscura, contenia una poblacion mezclada de vibriones y bacterias así como filamentos llenos de esporos. Igualmente se vieron enjambres de bacterias en la infusion de la especie roja.

Abrigando alguna duda acerca de la limpieza de las cámaras en que habian estado expuestas las infusiones, Tyndall mandó construir otras tres, y las proveyó de tubos nuevos. Enviáronle una partida de setas recientes de Heathfield, sustituyendo una seta parásita de los árboles, á la seta oscura de que se habia servido en el experimento anterior. El 1.° de octubre, se introdujeron con sumo cuidado las tres infusiones en sus cámaras respectivas, dándose á cada infusion una cámara. Creyó que seria oportuno variar el período de ebullicion. De consiguiente se hizo cocer un tubo de seta amarilla por espacio de cinco minutos, otro de diez y el tercero de quince. Los otros tubos cocieron por espacio de diez minutos. Al propio tiempo se expusieron al aire libre tubos cargados de infusiones semejantes.

En dos dias los tubos expuestos que contenian las infusiones de seta roja y amarilla, se enturbiaron cubriéndose de espuma grasienta. Nada de eso habia ocurrido en la superficie de la tercera especie empleada, la cual pareció al principio, cuando se la examinó, enteramente clara. Sin embargo, un exámen más detenido mostró que transmitia el rojo más oscuro del espectro y estaba en apariencia libre de materias en suspension. Rápidamente cambió durante la noche del 3 y la mañana del 4 de noviembre, pues el fondo de aquel tubo se encontró cargado con un precipitado pesante pardo oscuro, mientras que numerosos copos de igual color flotaban por el líquido de encima, el cual se habia puesto casi tan claro y tan incoloro como el agua.

A la investigacion del microscopio la masa parda oscura se resolvió en confusas masas semejantes á musgos, y en largos tubos cilíndricos cubiertos en toda su longitud de pe-

queñas manchas oscuras. Aquellos filamentos provistos de cuerpos en forma de esporos, se presentaron con frecuencia en el transcurso de tales experimentos.

Los fenómenos que ofrecieron las cámaras herméticamente cerradas son los siguientes: 1.° *seta amarilla:* el líquido de los tres tubos quedó perfecta y constantemente claro, sin ningun indicio de aquella espuma que cubria los tubos expuestos; 2.° *seta roja:* uno de los tres tubos se puso muy turbio, al paso que los otros dos conservaron su brillante transparencia; 3.° *seta de árbol:* uno de los tubos se enturbió mucho, y los otros dos se mantuvieron perfectamente claros.

Era de preguntar entonces por qué uno de los tubos de la seta roja habia cedido mientras que los otros estaban intactos. La respuesta parecia fácil. El tubo turbio habia hervido solamente por espacio de cinco minutos y los que se habian conservado claros habian cocido por espacio de diez. Pero al consultar la cámara contigua, quedó destruida esta plausible explicacion, porque se vió que el tubo enturbiado habia cocido durante diez minutos y su vecino que estaba inalterado solamente durante cinco.

Así que, por más que una esmerada repeticion de los experimentos, no librase de la infeccion todos los tubos, la circunstancia de haberse preservado siete de los nueve sometidos al exámen, destruye enteramente la presuncion del desarrollo expontáneo de la vida que algunos de los primeros experimentos del doctor Tyndall habrian podido sugerir á ciertos partidarios de este error.

Con el fin de observar más atentamente la accion del aire ordinario sobre infusiones de setas hervidas, se cargaron de ellas cien tubos el dia 14 de octubre, colocándolos en una tabla agujereada al efecto. Treinta y cinco de estos tubos se llenaron con una infusion de setas oscuras ó de árbol, treinta y cinco con una infusion de setas amarillas y treinta con una infusion de setas rojas. El 16 todos los tubos de la especie amarilla, estaban turbios y cubiertos de una espuma densa y coherente parecida á una telaraña. Las superficies de los tubos de la especie oscura estaban sembradas de manchas de espuma blanca. La turbidez fué el único cambio observado en los tubos de la seta roja. Estaban enteramente libres de espuma.

Examinados en 2 de noviembre los tubos de la especie amarilla con el microscopio, se encontró que en su mayor parte pululaban bacterias extremadamente pequeñas y activas; en los tubos de la especie roja, hormigueaban tambien las bacterias mezcladas con algunas sartas de vibriones. En muchos tubos examinados, pudo reconocerse la infinidad de mónadas que alcanzan un desarrollo sorprendente en las infusiones de setas oscuras. Masas de materias semejantes al musgo aparecian aquí y allá en el campo del microscopio, y no era cosa rara ver diez á veinte mónadas anidar y removerse en medio de aquel *musgo* entrando y saliendo alternativamente. Recordaban vagamente los renacuajos al salir de su freza, y al mirarlas se convencia uno de que la animalidad de aquellas era casi tan patente como la de estos animales. Casi cada grupo de materia comparable con la freza tenia su colonia; y en algunos casos era imposible distinguir otra cosa que mónadas.

En cambio, otros grupos tenian tan grande muchedumbre de vibriones activos que las mónadas no podian encontrarse en el campo del microscopio.

§ 10

Infusiones de cohombro, remolacha, etc.

Habiendo desaparecido las setas al aproximarse el invierno, quiso Tyndall estudiar el cohombro y la remolacha, no suponiendo que su esterilizacion pudiese ofrecer dificultad alguna. Preparó, pues, dos cámaras herméticamente cerradas, dejándolas en reposo

todo el tiempo conveniente; y el 7 de noviembre se cargaron la una con infusion de cohombro, y la otra con infusion de remolacha. En pocos dias cedieron las infusiones en ambas cámaras, perdiendo primero su transparencia, y cubriéndose despues de espuma grasienta, lo cual era suficiente para aumentar las perplejidades.

El 18 de noviembre se cargaron veinte y cuatro tubos de Cohn con infusion de cohombro, de remolacha, de zanahoria y de nabo, dedicando seis tubos á cada infusion. Colocáronse en un vaso lleno de agua fria, elevándolos gradualmente á la temperatura de la ebullicion y manteniéndolos á esa temperatura por espacio de diez minutos. Antes de retirarlos del líquido caliente se taparon completamente con un tapon de nata.

El 30 de noviembre todas las infusiones estaban turbias y cubiertas de espuma.

De las precauciones mencionadas que tambien ahora se tomaron, puede deducirse que antes de llegar á dicho resultado, se sospechaba ya de la atmósfera en que se practicaba el experimento. Habian estado expuestas diversas especies de heno, añejo y reciente en el laboratorio, cuyo aire contenia sin duda alguna, una multitud de esporos que se habian desparramado por doquiera. Así es como á todo evento podian explicarse los resultados obtenidos. De consiguiente, el 20 de noviembre se prepararon otras infusiones de cohombro, remolacha, zanahoria y nabo, fuera del laboratorio, en uno de los aposentos más altos de la Institucion Real, y se introdujeron en cuatro cámaras nuevas de tres tubos cada una. Consideróse útil tomar la precaucion de preparar las infusiones é introducirlas en sus cámaras respectivas á cierta distancia una de otra. Por último, cuando se hubieron cargado las cámaras, se bajaron y cocieron las infusiones en el laboratorio.

Dos dias despues solamente permanecia clara la infusion de zanahoria; pero al poco tiempo empezó á enturbiarse como sus vecinas. El dia 30, las infusiones de nabo estaban turbias y cubiertas de una espesa capa de espuma grasienta. El cohombro se cargó tambien de esta espuma que enviaba largos filamentos al líquido subyacente. La remolacha coincidió con las otras substancias en lo tocante á turbidez, pero discrepó por la falta de espuma.

En ninguno de los casos observados el año anterior presentó la infusion de nabo los mismos fenómenos. Sabiendo por otra parte que esa infusion era incapaz por sí sola de desarrollar la vida, la única deduccion que debia hacerse era, lo mismo que en la de remolacha, de cohombros y de zanahoria, que la infeccion del exterior habia influido.

Convenia, pues, para aclarar la cuestion repetir esas operaciones en salas distintas, tomando la precaucion de hacer hervir igualmente las infusiones introducidas en sus cámaras respectivas. Hemos indicado ya que cuando se retiraban los tubos del baño de aceite y habia cesado el desprendimiento de vapor, se efectuaba una entrada de aire bastante fuerte en la cámara en estado de enfriamiento. Para privar ese aire de dichos gérmenes, el embudo de la pipeta y los extremos abiertos de los tubos doblados se taparon cuidadosamente con nata. Se procuró además no quitar ni mover esos tapones hasta que la cámara estuviese completamente enfriada. Estas operaciones se repitieron sobre las mismas materias, á saber: cohombro, remolacha, nabo y zanahoria.

El 25 de noviembre habia cuatro cámaras cargadas con las respectivas infusiones, las cuales estaban el dia 30 cubiertas todas de una espesa capa de espuma grasienta. Luego todos los esfuerzos para preservar de la infeccion estas soluciones habian sido inútiles.

Durante estos experimentos se habia observado un fenómeno que se reprodujo varias veces en adelante. Además de los tubos protegidos, algunas muestras de la misma infusion, se expusieron siempre al aire ordinario, y estas últimas cedian constantemente uno ó dos dias antes que los tubos protegidos. Ahora bien, en el caso que nos ocupa, la infusion nabo continuó siendo clara y exenta de vida en el exterior, mientras que en los tubos protegidos se enturbiaba, y desarrollaba organismos. ¿Cómo podia suceder este fenómeno? El caso de las dos tablas de tubos colocadas una encima de otra, como habia hecho Tyndall el año anterior, se venia á la memoria.

Tocante al desarrollo de la vida se vió entonces que la tabla inferior se adelantaba siempre á la superior. Como se notó entonces, la falta de agitacion que permitia á los gérmenes caer en los tubos de arriba era la causa de la infeccion más rápida; y nada más debe buscarse en buena lógica en los fenómenos que acabamos de indicar. Por un medio ó por otro se habian insinuado gérmenes en la cámara herméticamente cerrada en donde la tranquilidad del aire les permitia caer en la infusion y producir efectos más rápidos que los gérmenes en suspension en el aire agitado del exterior.

¿Mas cómo podian penetrar los gérmenes en la cámara? No podia comprenderse sino de una manera. La temperatura habia pasado del calor al frio y del frio al calor. La temperatura natural del exterior llevaba á veces el aire que circundaba las infusiones á una temperatura superior á 90° Fahr., y con frecuencia se habia de trabajar con esta temperatura. Para moderarla se apagaba parcialmente el gas bajando la temperatura de la cámara unos 10°. Entonces el aire interior de la caja se enfriaba, se contraia, y como los tubos doblados quedaban abiertos, podia muy bien efectuarse una entrada de aire bastante rápida para acarrear gérmenes del exterior.

Preparóse, pues, una nueva cámara de seis tubos en el piso alto, habiendo cargado tres con infusion de cohombro y tres con infusion de nabo el 27 de noviembre. El embudo de la pipeta y los tubos doblados se taparon encima con nata que ya no se quitó en adelante. Se procuró además no tocar en modo alguno el hornillo de gas. Pero todas las precauciones fueron inútiles: á los tres dias los seis tubos estaban cuajados de organismos. Otra cámara de seis tubos cargados el 30 de noviembre con infusion de cohombro y dos cajas más preparadas el 1.° de diciembre sufrieron la misma suerte.

Pusiéronse á digerir durante tres horas varias ronchas de remolacha; filtróse la infusion separándose así toda sustancia que hubiese podido formar pósito. Introdujóse el líquido así preparado en cinco tubos de vidrio macizos que se cerraron herméticamente y luego se colocaron en un baño de aceite frio para elevarlos gradualmente á 230°, temperatura á que se les mantuvo por espacio de un cuarto de hora. En seguida los tubos se sacaron de allí poniéndolos á enfriar. Introdújose entonces la infusion en una cámara de seis tubos y allí se hizo cocer durante cinco minutos.

El exceso de calor dado al líquido no retardó poco ni mucho el desarrollo de la vida, pues antes de dos dias todos los tubos de la cámara estaban plagados de bacterias. De manera que cada nuevo ensayo para hallar una solucion al problema, era un nuevo fracaso.

¿Pero á qué venia buscar tales soluciones? se preguntará. ¿No era todo esto al fin y al cabo una preocupacion contra la doctrina de la generacion expontánea, y no habia sido mejor admitir de plano los experimentos aducidos en pró de la misma como una demostracion de esa doctrina? De ningun modo. La única preocupacion consistia en la repugnancia de admitir consecuencias fundadas en razones insuficientes. Aquí puede aplicarse la célebre argumentacion de Hume. Considerando los anteriores experimentos era más natural creer ó que los conocimientos del experimentador eran erróneos, ó imperfecto su trabajo, antes que creer en la veracidad de la generacion expontánea.

§ 11

Nuevos experimentos sobre infusiones animales. — Resultados contradictorios.

Durante el curso de sus últimas investigaciones Tyndall tenia de contínuo presentes en su memoria los experimentos que habia practicado en 1875, en los cuales la proteccion contra las bacterias y las mucedíneas habia sido tan eficaz. Habia operado muchísimas veces

con infusion de nabo y nunca habia encontrado la menor dificultad á la esterilizacion de la misma. Verdad es que el cuidado puesto en preparar la infusion de nabo en 20 de noviembre de 1876 habia sido mayor que el empleado en 1875; pero mientras que la última quedaba invariablemente esterilizada con cinco minutos de ebullicion, ostentándose luego tan transparente como el agua destilada, la primera tres dias despues de su preparacion se puso muy turbia y pululaba de vida. Extendió el mismo estudio á otras sustancias con las cuales se habia él familiarizado el año anterior, y algunas de esas sustancias permanecieron tan claras siempre como el dia de su preparacion.

Así por ejemplo el 1.° de diciembre preparó infusiones de carne de vaca, carnero, cerdo, arenque, gado y sollo, introduciéndolas luego en seis cámaras herméticamente cerradas cada una de las cuales contenia tres tubos. Otra cámara preparada al propio tiempo y que contenia una infusion de alcachofa, se encontró el dia 5 más turbia que ninguna de las infusiones animales é igualmente cubierta de espuma. En las infusiones animales la columna líquida situada debajo de la espuma conservaba una transparencia sorprendente, habiéndose confinado el desarrollo de la vida á la capa que estaba en contacto inmediato con el oxígeno atmosférico.

El dia 5 estaban las infusiones de arenque y sollo perfectamente claras; pero no ocurrió entonces más que un atraso, pues al dia siguiente aparecieron manchas blancas en la última extendiéndose hasta cubrir toda la superficie. La infusion de arenque permaneció clara todavia durante una semana, poco despues principiaron á aparecer manchitas en su superficie, pero no alcanzó jamás el grado de desarrollo por lo que respecta á la espuma que cubria las demás infusiones. Tyndall ha observado diferentes veces que el aceite del arenque ejerce una accion antiséptica.

En dicho año anterior Tyndall conservó una infusion de arenque perfectamente clara durante algunos meses, hasta en una cámara tan defectuosa que luz penetraba á través de sus junturas. Además, no experimentó nunca la menor putrefaccion en las infusiones de los animales antes enumerados. Permanecieron sanos y claros: en cambio al año siguiente á pesar de las precauciones empleadas mucho mayores y cuidadosas, no pudo impedir la putrefaccion. En vista de semejante resultado, solo era posible una conclusion científica, á saber: que la carne de vaca, carnero, cerdo, gado, arenque y sollo habia cambiado de naturaleza por completo y contraido en 1876 cualidades que no poseia en 1875. Pero si la vida observada no podia atribuirse á las mismas infusiones, no era posible achacarla más que á la infeccion atmosférica.

Por lo tanto, cada vez se hizo más evidente para Tyndall que á causa de un acrecentamiento de vitalidad en los gérmenes atmosféricos flotantes en este último año, como tal vez la mayor ó menor negligencia empleada en las preparaciones, ó el menor defecto de construccion en las cámaras, sin consecuencia ninguna en el año precedente, fueron suficientes para dificultar las experiencias y para hacer ineficaces los medios ordinarios de esterilizacion. Procuró, pues, corregir cuantos defectos observaba y con el fin de cerrar lo más herméticamente posible las cámaras, haciendo desaparecer cualquier hendidura, raja ó juntura que pudiese permitir la contaminacion ó contagio, hizo cubrir cierto número de cámaras por una triple capa de pintura muy espesa. Además, como no habia sido posible encontrar una atmósfera desinfectada en el piso superior, trasladó todos sus aparatos á un cuarto del almacen situado en los bajos de la Institucion Real. Se alfombró el piso de dicho cuarto bajo que era de piedra. Antes de entrar en él el preparador, le hizo Tyndall cambiar los vestidos que usaba en el laboratorio, por otros nuevos. En una palabra, se tomaron toda clase de precauciones y de cuidados, y en semejantes condiciones se prepararon las infusiones de las substancias siguientes: cohombro, melon, nabo y alcachofa, sobre las cuales se operó desde el principio al fin en dicho cuarto de la planta baja. Dos cámaras se reservaron para cada infusion y despues de la ebullicion ordinaria en las cámaras, se las dejó durante la noche en el citado aposento inferior y á la mañana siguiente se trasladaron al confortable laboratorio.

Era de esperar que la gran mayoria de las cámaras quedaria estéril, y si no creia Tyndall encontrarlas todas en esa condicion, era porque las cámaras se habian colocado de una vez en el laboratorio, cuyo aire debia haber depositado sus gérmenes, no solamente en su revestimiento interior de glicerina, sino también en la superficie interna de los tubos sometidos á ensayo. A pesar de las justificadas previsiones cuyo favorable resultado era de esperar, no se realizaron, sin embargo; y la única particularidad notable que presentaron las infusiones, fué la de haber cedido al fin todas, aunque con mucha tardanza.

No es de suponer que la infeccion procediese en tal caso del aire de la cámara, en atencion á que el 27 de diciembre fueron abiertos en la misma cuatro tubos cerrados herméticamente y cargados con una infusion de cohombro que habia permanecido completamente transparente durante algunas semanas; así como tambien se abrieron al mismo tiempo en el laboratorio otros cuatro cargados de la misma infusion; resultando de tal experiencia, que el 31 del mismo mes el grupo entero de los últimos estaba invadido por organismos, al paso que los primeros ó sea los abiertos en la cámara, no presentaron indicio alguno de infeccion ni desarrollaron ninguna vida.

No era de suponer pues, que el aire de la cámara hubiera podido ejercer alguna influencia en las infusiones contenidas en la cámara herméticamente cerrada, sino que, por el contrario, el contagio existiria ya en las cajas antes de bajarlas al piso inferior: obraban como si fuesen cajas infecciosas situadas en el aire salubre.

§ 12

Infusiones protegidas por medio de campanas de cristal conteniendo aire calcinado.

Hé aquí como describe Tyndall este método de experimentacion (1). Unas campanas de cristal descansan sobre unas mesas de madera circulares, sostenidas por trípodes (fig. 5). Bajo cada campana van dos ramas verticales de grueso alambre de cobre, y extendiéndose del uno al otro, se desarrolla una espiral de platino. Pasando dicho alambre á través del disco de madera, deja sueltos ó libres sus extremos á la accion del aire: el borde de cada campana va rodeado de un collar de estaño sujeto á una mesa con cera, dejando un espacio de media pulgada próximamente entre dicho collar y el vidrio.

Despues de la introduccion de las infusiones é instalacion de la campana, Tyndall llenó de nata el espacio anular referido. Su fin principal era destruir, por medio de la espiral de platino incandescente, las materias flotantes en el aire. El aire calentado por la espiral habria de dilatarse, desde luego, pasando al exterior á través de la nata, en tanto que el aire que entra entonces del enfriamiento de la campana, se filtraria convenientemente por el algodon.

En las primeras experiencias, bastaron cinco minutos de incandescencia para volver el aire absolutamente inactivo en las infusiones expuestas á él.

En las nuevas experiencias el período de incandescencia se duplicó, empleando diez minutos en vez de cinco, mientras se calentaba el hilo todo lo más posible. El nabo y el cohombro fueron las infusiones empleadas, cargándose por cada parte un grupo de tres. Así que el aire fué calcinado, se hirvieron las infusiones durante cinco minutos en un baño de aceite. Con semejante tratamiento, ni una sola decepcion sufrió Tyndall en 1875, en la infusion de nabo que formaba parte de los líquidos con los cuales efectuaba la expe-

(1) *Fil. Trans.* vol. CLXVI, p. 50.

rimentacion. En dicho año, dos dias fueron suficientes para estudiar cada uno de los seis tubos y cubrir las infusiones de una fuerte capa de espuma.

Sin embargo, pudo dudarse de la completa hermeticidad de las campanas á causa de haberse fundido la cera que sujetaba el collar de estaño á la mesa y dejado acá y allá algunos intersticios por donde era posible hubiese podido penetrar el contagio. Se montaron, pues, seis nuevas campanas que se rodearon de los propios collares, pero sujetándolos fuertemente esta vez á la mesa, hundiéndolos en un baño de plomo. La altura del citado collarete que determinaba la profundidad de la capa filtrante de algodon en rama, fué considerablemente aumentada con relacion á la del año anterior.

Lo mismo que en dicha época, el período de incandescencia fué de diez minutos, durante cuyo tiempo el hilo de platino se clavó casi á la temperatura de fusion.

Cada una de las seis campanas cubria un grupo de tres tubos. De dichos grupos dos fueron cargados con la infusion de nabo, otros dos con la de cohombro y otros dos con la de alcachofa. Como de costumbre, se hirvieron dichas infusiones durante cinco minutos despues de la calcinacion. Concluida la preparacion su brillantez era notoria: dos dias despues se enturbiaron todas y se cubrieron de una espuma grasienta. Esto aumentó gradualmente hasta alcanzar en algunos tubos un espesor de cerca trece milímetros. Su propio peso la arrastraba á veces al fondo. Formaba entonces una especie de cono inverso, cuya punta ó vértice estaba separada de la base más de veinte y cuatro milímetros. Esos depósitos se resolvian al cabo y remitian sus organismos al líquido subyacente.

§ 13

Nuevas precauciones contra la infeccion.

A principios del mes de diciembre, habiendo llamado la atencion de Tyndall la ineficacia persistente del experimento, examinó todavía con mayor minuciosidad de la empleada hasta entonces la carga de los tubos de ensayo por medio de la pipeta, y con tal motivo advirtió que algunas barbujillas de aire eran arrastradas por las infusiones, concluyendo de ello que al llegar al extremo inferior de la pipeta las mencionadas burbujas, se quebraban y exparcian por el interior de la cámara los gérmenes de que iban cargadas. El año anterior apenas se hubiera creido que una causa tan insignificante pudiera ser la base de las anomalias observadas; pero en el nuevo ensayo del siguiente año se tuvo muy en cuenta toda circunstancia que pudiera ser ocasion de contrariedad, y se tomaron cuantas medidas aconsejaba la observacion y la prudencia para impedir ó evitar la introduccion del aire.

El 4 de dicho mes, tres cámaras que se habian sometido al reposo durante varios dias, fueron cargadas con una infusion de cohombra cuidadosamente preparada; otras dos se reservaron para la de nabo.

Al efecto se tomaron las siguientes precauciones: el embudo de la pipeta antes empleado fué separado de su tubo y sustituido por otro *embudo de separacion* con una espita de cristal. Esta se unió al tubo de la pipeta por medio de un boton de cauchú fuertemente ajustado; poco antes que la conexion tuviera lugar, se llenó el embudo de la infusion y se abrió por un momento la espita á fin de que el líquido pudiera pasar. Cerrada inmediatamente dicha espita, cesó de caer el líquido y la columna fluida contenida en el tubo por debajo de la espita quedó sostenida por la presion atmosférica.

Una pinza sujetó el tubo de cauchú por el centro; la porcion del tubo por encima de la pinza se llenó seguidamente con la infusion, y el extremo del embudo de separacion se introdujo en el tubo. De este modo el aire quedó completamente excluido. Abierta la espita

y separada la pinza, el líquido pasó lentamente al tubo de la pipeta llenándole por completo. La punta de dicho tubo se situó entonces sucesivamente encima de los tubos de ensayo, que con tal procedimiento se llenaron sin arrastre alguno de aire.

Semejante disposicion no era todavia perfecta, pero sí un gran adelanto sobre los aparatos empleados anteriormente. Como antes las cámaras se colocaron en una sala cuya temperatura era 90° Fahr., próximamente.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: de las dos cámaras preparadas el dia 4 con la infusion de nabo de la manera que acabamos de describir, una habia completamente cedido el dia 6; en la otra de tres tubos, dos habian cedido igualmente, pero el otro habia quedado claro.

Antes de esa série de experimentos, no se habia jamás obtenido resultado alguno en un tubo de cohombro; sin embargo, en este último dos de las tres cámaras lo conservaron perfectamente límpido. Subsiguientemente una de las dos cámaras protegidas cedió á causa de un accidente, pero la otra quedó tan nítida como el dia de su preparacion, esto es, como estaba hacia ya muchos meses.

Ahora bien, por lo que respecta á las condiciones de poder engendrar la vida, esta cámara se encontraba precisamente en las mismas condiciones que las restantes. Todas contenian la misma infusion y, por consiguiente, no se puede explicar satisfactoriamente su divergencia sino admitiendo la contaminacion del exterior. Se estaba pues en la pista del enemigo que tantas desazones habia causado.

El 5 de diciembre se cargaron dos cajas adicionales de una infusion de melon preparada como de costumbre; el 12 se sometieron dichas cámaras como tambien las cargadas el 4 á un exámen escrupuloso. El resultado fué curioso. Despues que se introdujeron las infusiones y antes de retirar el embudo de separacion, el boton de cauchú que ajustaba este último con el tubo de la pipeta se sujetó perfectamente con ayuda de unas pinzas.

Si el citado boton de cauchú estaba bien ajustado, esto es, si sujetaba de modo tal los tubos que impidiera el rezumamiento del líquido, éste, contenido en el de la pipeta, debia permanecer quieto, suspendido como estaba por la presion atmosférica; y por el contrario, si la juntura no era perfecta, el aire se filtraria por el intersticio que hubiera por pequeño que este fuese, entre el cauchú y el cristal, dando por resultado una depresion del líquido. Lo observado el 12 fué lo siguiente: solamente en dos cámaras de las siete preparadas el 4 y el 5 la columna líquida se hallaba perfectamente suspendida, y solamente tambien en esas dos cámaras quedó la infusion transparente.

En las cinco restantes las columnas líquidas respectivas que llenaban completamente los tubos de las pipetas el 4 y el 5, se hallaron más ó menos deprimidas. Los tubos de una de las cámaras, de la que contenia infusion de melon, se habia enturbiado rápidamente y cubierto de espuma. La pipeta de esa caja quedó desde entonces libre del líquido y se llenó de aire. Otra cámara contenia o'226^{mm}., de aire en su pipeta y otra o'176^{mm}. Una cuarta cámara tenia solamente o'025^{mm}. de tubo lleno de aire; en ésta, uno de los tres tubos de ensayo se habia conservado claro.

Por lo tanto, donde el cierre ó ajustamiento era perfecto se obtuvieron infusiones completamente límpidas; donde era defectuoso por completo, todas cedieron; y donde sólo era defectuoso en parte ó que solo presentaba un ligero defecto, una fraccion de los tubos quedó preservada.

No cabia pues la menor duda que la causa de las decepciones tan frecuentemente sufridas por Tyndall, residia en la manera como dichas infusiones eran introducidas en los tubos de ensayo; la columna líquida absorbiendo en su descenso las barbujas del aire contenido entre el boton de cauchú y la pipeta, absorbia al propio tiempo el contagio del exterior.

Muchas veces las precauciones tomadas, por insignificantes que parezcan, libran del error al observador en experimentos de esta naturaleza; y la falta de ese requisito, hace que algunos célebres microbiólogos, ni siquiera tengan nocion del peligro inherente á sus métodos de experimentacion.

§ 14

Experimentos en el jardin real de Kew.

No fué solamente en casos excepcionales de pendientes del estado atmosférico, que precauciones tales como las que acabamos de consignar en el párrafo precedente, se considerasen suficientes para asegurar la exencion del contagio. Este parecia tener lugar constantemente en todas partes, y la cuestion de saber si era local ó general—debido á la condicion accidental del laboratorio ó á una epidemia del aire,—fué difícil de decidir *à priori*.

Tocante á este punto, Tyndall se hallaba perplejo. La infeccion segun todas las apariencias, se explicaba perfectamente teniendo en consideracion el cuidadoso método seguido; pero habiéndose desarrollado en aquel otoño varias epidemias, le pareció prudente investigar si semejante infeccion fuese debida á un período prolífico especial para los gérmenes de la putrefaccion.

Al efecto pues, dejó de practicar más experimentos en la institucion real, abandonó dicha residencia, y competentemente autorizado por su amigo *sir Joseph Hooker,* hizo trasladar sus aparatos al jardin de Kew, en cuyo punto gracias á la munificencia del señor Jodrell, se habia instalado un nuevo y muy completo laboratorio, en el cual desde luego notó ú observó con satisfaccion un aire mucho más puro que el contenido en el anterior laboratorio de la institucion real.

Hasta entonces sus cámaras habian sido construidas de madera, pero los empleados en Kew lo fueron de estaño comun y conducidas directamente de la hojalateria al jardin sin pasar por la calle infectada de Albemarle.

Los tubos de ensayo empleados en Kew, tambien se limpiaron desde luego con ácido fénico, despues se lavaron con una solucion de potasa cáustica, seguidamente se enjugaron con agua destilada, y finalmente se expusieron á la accion de una llama Bunsen hasta alcanzar casi un estado incandescente. Hecho esto se fijaron en las cámaras de una manera hermética, empleando la estopa y la cerusa (albayalde ó carbonato de plomo).

Las nuevas cámaras se cerraron el 3 de enero abandonándose al reposo hasta el 8. Se habían introducido en ellos todos aquellos líquidos que más refractarios se habían presentado en el laboratorio de la institucion real, ó sea las infusiones de cohombro y de melon. Se consagraron dos cámaras á cada una de ellas, conteniendo cada una cuatro grandes tubos de ensayo.

El período de ebullicion fué lo considerado eficaz el año último, esto es, cinco minutos. La temperatura de la sala en la cual estaban situadas las cámaras, fué mantenida en parte por una estufa de aire caliente y en parte por hogares de gas, elevándose á 90° Fahr. aproximadamente.

Otros tubos conteniendo la propia infusion fueron expuestos el mismo tiempo al aire ordinario del laboratorio de Jodrell. Estos se enturbiaron rápidamente y se cubrieron de espuma. El interés que despertaron y la ansiedad que promovieron en Tyndall fueron grandes, durante los primeros dias del ensayo de los tubos protegidos. Transcurridos once dias, todavia no presentaban señales de vida.

El 19 de enero las cuatro cámaras se llevaron de Kew en un coche á la Institucion Real, y presentadas seguidamente por la noche á los miembros entre los cuales se encontraban los sabios más eminentes de la precitada Sociedad Real, pudieron observarse las infusiones que brillaban con pura nitidez, sin la menor señal de espuma ó de enturbiamiento.

Durante los anteriores esfuerzos (muy numerosos por cierto), Tyndall no habia podido lograr jamás salvar de la infeccion ni uno solo de los tubos que contenian la infusion

de melon, y en este último experimento sin embargo, habia logrado su objeto: todos los tubos de ambas cámaras estaban intactos. Así pues, era cierto que la epidemia estuvo localizada, que la causa evidente de sus resultados negativos precedentes, era el aire pútrido del laboratorio de la Institucion Real.

Mucho tiempo despues de esta prueba definitiva, un tubo de la infusion de cohombro se enturbió, pero los dos más cercanos á él en dicha caja quedarán intactos. Ninguno de los demás, ya fuese melon ó cohombro cedió. Permanecieron tan transparentes en Londres como lo habian estado en Kew.

El transporte de la calle de Abermale á la Cité en el pasado año, destruyó un gran número de cámaras esterilizadas, así es que no fué poca fortuna se salvaran ó que no sucediera lo propio con la trasladacion de Kew á la Institucion Real.

Puede observarse de paso que la infeccion de las infusiones por simples sacudimientos, es una prueba evidente que el contagio no es un gas ni un vapor, sino que consiste en ciertas partículas susceptibles de ser desprendidas de la superficie interior de las cámaras, partículas dotadas del poder de pasar al estado de vida activa.

Otras dos cámaras se expusieron al mismo tiempo en el laboratorio Fodrell, una conteniendo una infusion de carne de buey y otra de suela ó lenguado (especie de pez del género pleuronecto), y aunque estas substancias no sean ni en mucho tan susceptibles de infeccionarse como el cohombro y el melon, no obstante uno de los tres tubos de carne de buey fué atacado y se enturbió. A derecha é izquierda de este tubo sus dos compañeros permanecieron inalterables, con transparencia perfecta.

Como prueba del carácter externo del contagio, este resultado fué más concluyente que si los tres tubos se hubieran conservado igualmente intactos; puesto que si el poder desenvolvente de los organismos que producen el enturbiamiento, fuesen inherentes á las infusiones, su accion no hubiera sido ejercida en un solo tubo, sino en todos.

Se comprenderá perfectamente que cuando la cámara se retira del baño de aceite en el cual las infusiones son hervidas, el aire interior se contrae siendo la consecuencia una reconcentracion. Si el aire así reducido puede ser convenientemente filtrado haciéndole pasar á través de los tapones de algodon en rama, no resulta mal alguno; pero si entra por una sola abertura inadvertida arrastrará las partículas consigo.

En la cámara de buey que hemos mencionado, una abertura de esa especie, por la que apenas hubiera cabido la punta de un alfiler, fué descubierta. Pues á pesar de su insignificancia fué la puerta por donde se introdujo el contagio. Por un defecto parecido pero mucho mayor de su cámara, fué por lo que cedió igualmente la infusion de lenguado.

Sin embargo, en otro experimento ulterior hecho con la infusion de la substancia últimamente citada en el propio laboratorio Fodrell, dos terceras partes del número total de tubos permanecieron libres de todo contagio, ó mejor dicho exentos de vida.

§ 15

Experimentos efectuados sobre el tejado de la Institucion Real.

Con objeto de efectuar experimentos lo más aproximados posible á los verificados en Kew, Tyndall hizo construir una especie de barraca ó cabaña sobre el tejado del laboratorio en la Institucion Real. Dicho armatoste se proveyó de banquetas, de una distribucion de agua y de gas y de un hogar para su calefaccion. El experimento se basó particularmente sobre la infusion de cohombro, que era la que se habia mostrado más refractaria en el laboratorio. Dos cámaras de estaño de tres tubos cada una fueron preparadas, y

se transportaron directamente á la mencionada barraca desde el taller en que fueron construidas, sin que pasaran por el laboratorio. El cohombro utilizado para la infusion fué tambien conservado al abrigo del aire infectado; siendo cortado á trozos y puesto á digerir en la cabaña, la infusion fué filtrada, introducida en la cámara de estaño y hervida subsiguientemente durante cinco minutos.

El resultado no fué el que se esperaba, puesto que ni un solo tubo se libró del contagio. Lo mismo que en el laboratorio habia sucedido tiempo atrás, sucedió ahora; en tres dias se enturbiaron todos los tubos y cargaron de espuma grasienta.

Siempre ha llamado la atencion de los observadores en general y en particular de Tyndall el paralelismo entre los fenómenos de la putrefaccion y las enfermedades contagiosas. Un nuevo ejemplo de semejante paralelismo se presentó en esta ocasion. Los vestidos de los encargados de preparar las infusiones en la improvisada cabaña, eran los mismos que usaban en el laboratorio, lo cual fué indudablemente causa del transporte de la infeccion, accion muy conocida de los médicos y que cualquiera de estos que reflexione un poco acerca de ello, no dejará de reconocer la absoluta identidad entre el contagio que le es tan familiar y la hidratacion ó absorcion de otro semejante por las infusiones de Tyndall, contra lo cual luchó durante tan largo tiempo.

Así pues, el primer cuidado de Tyndall, en vista de semejante resultado, fué desinfectar la improvisada cabaña, procediendo desde luego á lavarla con una mezcla de ácido fénico y de agua, y luego con una solucion de potasa cáustica.

Cuando todo estaba completamente enjuto se introdujeron de nuevo otras cámaras de estaño recien construidas con sus tubos. Frescos cohombros y carne de buey acabados de comprar fueron puestos á digerir en la cabaña, habiendo tenido cuidado antes los preparadores de ponerse un pantalon y una blusa nuevos. Se destinó una cámara al cohombro y otra á la carne de buey ; en la primera se introdujo la infusion el dia 19 de marzo y en la segunda el 20 ; ambas infusiones fueron hervidas durante cinco minutos despues de su introduccion.

Comparemos los resultados y veamos las conclusiones que de ellos se desprenden : A unos ocho metros próximamente de la cabaña, ó sea en el laboratorio, las infusiones de buey y de cohombro no pudieron esterilizarse con tres horas de ebullicion, hasta hubo substancias que despues de haber estado hervidas durante cinco horas, desarrollaron una vida en extremo lujoriante. El propio experimento hecho en la cabaña desinfectada, sobre una preparacion hervida solamente durante cinco minutos, dejó la infusion y subsiste todavia, tan limpida como el dia en que se introdujo en los tubos de experimentacion.

¿ Qué prueba esto ? ¿La infusion estaría dotada en el laboratorio de un poder de generacion del cual estaría desprovista en la cabaña? Salvo la condicion del aire, ¿ un espacio lineal de ocho metros puede dar un resultado tan distinto ? Nos parece que huelgan los comentarios. Sin embargo, permítasenos añadir solamente que el hecho de sacudir una caja de heno en la cabaña bastó para convertir su pura atmósfera en infecciosa, tanto ó más que la del laboratorio. Algunas veces la circunstancia de llevar la cabeza descubierta el encargado de las preparaciones, por más que estuviera cuidadosamente vestido de nuevo, bastó para producir la infeccion en la cabaña.

Creemos que si fuesen necesarios ejemplos para demostrar el cuidado que los médicos y cirujanos deben tener con sus métodos é instrumentos, los anteriores experimentos nos suministrarian los suficientes para no dar lugar á la duda, ni á la conveniencia de las precauciones que es necesario tomar en idénticas ó parecidas circunstancias.

§ 16

Experimentos preliminares acerca de el límite de resistencia de los gérmenes á la temperatura del agua en ebullicion.

Durante los experimentos mencionados en los capítulos precedentes, más de una vez se presentó á la imaginacion de Tyndall una observacion del profesor Lister así concebida: para aplicar el tratamiento antiséptico con buen resultado, el cirujano debe tener la conviccion profunda que la teoría de los gérmenes de putrefaccion es verdadera. Las decepciones accidentales no deben producir en él el esceptisismo, sino antes al contrario debe atribuirlos á defectuosidades de habilidad cirúrquica ; antes que dudar de su exactitud, debe dudar de su manera inhabil de operar. Esto puede ser considerado por alguien tal vez como una preocupacion ó deseo de querer prejuzgar un hecho. Sin embargo, lo expuesto por el profesor Lister nos parece compatible con la sana razon y el buen sentido, y si Tyndall se preocupaba hasta de lo más insignificante ó minucioso durante el curso de sus investigaciones, era porque sus anteriores experimentos habian hecho comprender que la larga série de decepciones sufridas y de las cuales nos hemos ocupado anteriormente, eran efecto de la ignorancia con que estaba acerca de las condiciones necesarias para evitar la contaminacion.

Teniendo pues presente la atinada observacion del profesor Lister, se dedicó Tyndall con más perseverancia que nunca al conocimiento de semejantes condiciones y con el propósito de averiguar algo más acerca la infeccion, su orígen, su persistencia y su base de accion ó manera de ser.

Al principio de sus investigaciones, cinco minutos de ebullicion bastaron como se ha repetido ya algunas veces, para estirilizar toda clase de infusiones.

Frecuentemente otras veces se extendió el período de ebullicion á diez y quince minutos, en algunas hasta mucho más, sin producir resultados satisfactorios, como tambien se ha indicado en el párrafo precedente.

Por lo tanto, Tyndall deseó conocer exactamente el límite de resistencia de los gérmenes, y con este objeto varió el 22 de diciembre seis *bolas de pipeta* de una infusion de cohombro, cuya densidad era de 1,004. Se cerraron seguidamente con uata y sellaron herméticamente, sometiéndose acto continuo á la ebullicion durante diez minutos. Otros símbolos cargados de la misma infusion y tratados de la misma manera fueron hervidos durante 30 minutos ; y por ultimo otras ocho bolas parecidas lo fueron durante dos horas.

El 23 de diciembre, tres bolas del primer grupo, otras tres del segundo y cinco del tercero fueron abiertas y expuestas al aire ordinario; la temperatura de este último se mantenia de una manera sensiblemente constante á 90° Fahr. Ninguna de esas veinte bolas se conservaron libres de vida. El 25 de diciembre todas estaban nebulosas ó enturbiadas.

Habia sin embargo una diferencia notabilísima entre las abiertas y las cerradas. Ya se tendrá presente que el aire tenia fácil acceso en las primeras á través del tapon de uata, mientras que las segundas estaban completamente al abrigo de su accion si se exceptúa la pequeña cantidad aprisionada encima del tapon léjos del cierre del tubo. Las bolas aéreas se enturbiaron rápidamente, mientras que una débil opacidad á lo más aparecia en las cerradas y selladas. Hasta dicha opacidad desapareció pronto dejando las infusiones aparentemente intactas. De hecho era necesaria cierta atencion para descubrir la presencia de esa vida fugitiva que duró tanto tiempo como existió oxígeno para sostenerla.

Se habian colocado lado por lado en grupos los tubos sellados y los abiertos. Aun cuando se hubieran observado rápidamente se hu-

biera notado la diferencia que existia entre ellos; hubiera bastado una sola ojeada para convencerse, pues la diferencia entre ellos era evidente. Este experimento suministró un ejemplo palpitante de la dependencia en que los organismos especiales de la putrefaccion se hallan con relacion al oxígeno del aire.

Se repitieron los ensayos el 28 de diciembre, y en esta época dos bolas de cohombro, dos de melon, dos de nabo y dos de alcachofa se cerraron y sellaron siendo mantenidas en una temperatura de ebullicion durante cuatro horas. De las ocho bolas seis estallaron durante la operacion, pero las dos restantes, una de melon y otra de cohombro, fueron preservadas. Despues de su enfriamiento sus tapados extremos se rompieron y las infusiones se situaron en una cámara caliente. El melon quedó perfectamente estéril, pero al cabo de dos dias la solucion de cohombro se enturbió y se cubrió de espuma grasienta.

Otras ocho bolas idénticas á las anteriores se hirvieron el mismo dia durante cinco horas y media; cuatro estallaron, pero las cuatro restantes quedaron intactas; de estas, dos contenian una infusion de cohombro, otra de melon y la otra ó sea la cuarta, de nabo. De ellas tres se esterilizaron por efecto de la ebullicion largamente continuada, era dicha operacion no produjo efecto alguno en la restante que era de cohombro. Dos dias despues esta última hormigueaba exuberante de vida y se manifestaba coronada de una espuma compuesta de bacterios entrelazados.

Un número considerable de experimentos parecidos se hicieron anteriormente. El 27 de enero por ejemplo, se hirvieron seis bolas de nabo durante tres horas y cuarenta minutos, otras seis durante cinco horas y otras dos durante cinco horas y cinco minutos. Para aumentar las probabilidades de infeccion, se suspendió en cinco de cada infusion un hacecillo de heno añejo de Colchester. A pesar de ello, la totalidad de balas quedaron estériles. La densidad comun de las soluciones empleadas era de 1,007.

Los haces de heno se sacudieron seguidamente sobre las infusiones, pero no produjeron ningun efecto. Varias semanas despues todavía permanecian límpidas. Semejante impotencia para producir la vida era debido á que el poder nutritivo de las soluciones habia sido destruido por influjo del calor? De ninguna manera, puesto que cuando se infectaron dichas infusiones, sea por medio de un haz de heno fresco, sea por medio de un pequeño tapon de uata frotada de antemano en las tabletas podridas de la cámara caliente, ó sea por último por medio de una gota de otra infusion que contenia hacterias, jamás dejó de desarrollarse la vida. Las únicas diferencias observadas entre el efecto del heno ó del polvo y de los bacterios vivos fué una simple diferencia de tiempo. La inoculacion de organismos definidos obraron más rápidamente que la infeccion por medio del polvo, pero el resultado por último era el mismo.

El 27 de enero nueve bolas de melon fueron tratadas exactamente como el nabo, sometidas á la accion del heno añejo de Calchester, cerrados por medio de un tapon de uata y sellados herméticamente encima del tapon. Seis de ellos se hirvieron durante tres horas y treinta y cinco minutos, y otros tres durante tres horas y cuarenta minutos. Todos quedaron perfectamente estériles; pero lo mismo que sucedió á la infusion de nabo, estos cedieron bajo el influjo del heno fresco, del polvo ó de las bacterias vivas. La densidad de esta infusion de melon era de 1,008.

§ 17

Nuevos experimentos acerca de el límite de resistencia de los gérmenes á la temperatura de ebullicion.

La duracion de la ebullicion necesaria para la esterilizacion de la infusion de nabo, está indicada por los experimentos precedentes; luego para determinar el límite de resistencia, Tyndall practicó sus ensayos adoptando un período de tiempo más corto. Hé ahí porque

el 1.° de marzo ocho grupos de bolas se cargaron de una infusion de nabo que habia sido preparada en una atmósfera intencionadamente infectada con heno añejo de Heathfield. Además, en cada cámara se suspendió un haz del mismo heno sobre las infusiones. El cuello de las bolas estaba obliterado ú obstruido con uata, y cerrado y sellado herméticamente encima del tapon. Los tubos se hirvieron seguidamente durante los períodos siguientes:

1 grupo.	15	minutos.
2 »	30	»
3 »	45	»
4 »	60	»
5 »	75	»
6 »	90	»
7 »	105	»
8 »	120	»

Despues de la ebullicion se dejaron enfriar, se cortaron los cuellos con ayuda de una lima, y se expusieron en un gabinete confortable. Haremos notar que la infusion iba adquiriendo color á medida que la duracion de la ebullicion era mayor, aumentando gradualmente desde los quince minutos en que apenas era sensible, hasta las dos horas en que tomó un amarillo oscuro. Semejante efecto era debido sin duda á la oxidacion de la infusion, que á pesar del color presentaba en todos los tubos una trasparencia brillante.

Dos dias despues de su preparacion, todos los tubos principiaron á enturbiarse y á cubrirse de espuma.

El 6 de marzo los períodos de ebullicion se prolongaron en una infusion fresca. Dos grupos de tubos se sometieron á la accion del agua hirviendo durante el tiempo siguiente:

1 grupo.	180	minutos.
2 »	240	»

El 8 de marzo todos los tubos del primer grupo estaban turbios y cubiertos de espuma. El segundo, por el contrario, estaba perfectamente esterilizado. Dicho resultado confirmaba plenamente los experimentos verificados el 27 de enero. La infusion de nabo se hirvió entonces durante un período de tiempo que varió de 220 á 305 minutos, y dió por resultado una completa esterilizacion.

Semejantes resultados se comprobaron ulteriormente por medio de una continuada série de experimentos verificados con una extension mayor, durante un período de tiempo que varió desde una hora á seis, y la infusion resistió, como anteriormente, á la esterilizacion; pero así que los períodos de ebullicion se prolongaron respectivamente á cuatro, cinco ó seis horas, todas las bolas quedaron estériles. El líquido continuó mostrándose trasparente en alto grado y de un color brillante anaranjado oscuro.

Asimismo se practicaron otros experimentos con objeto de determinar el límite de resistencia de la infusion de cohombro.

Al efecto, el 24 de febrero se cargaron nueve bolas de pipeta obstruidas y herméticamente cerradas y selladas; se sometieron á la ebullicion durante el tiempo siguiente:

1.ª	15	minutos.
2.ª	30	»
3.ª	45	»
4.ª	60	»
5.ª	120	»
6.ª	180	»
7.ª	240	»
8.ª	300	»
9.ª	360	»

Despues de enfriadas se separaron los tapones con ayuda de una lima. El resultado fué como sigue: en la 5.ª bola correspondiente á un período de ebullicion de dos horas, el desarrollo de la vida cesó bruscamente. Todos los tubos hervidos de tres á seis horas inclusives, se esterilizaron por completo.

En esta ocasion la infusion habia sido diluida á causa de un accidente, de modo que su densidad no fué de mucho superior á la del agua destilada. Por tal motivo, el 28 de febrero, una infusion fresca de un peso específico de 1006 fué preparada é introducida en una série de bolas exactamente como en el experimento últimamente practicado. Las bolas se expusieron á la temperatura de ebullicion durante el tiempo siguiente:

1.ª	15	minutos.
2.ª	30	»
3.ª	45	»
4.ª	60	»
5.ª	120	»
6.ª	180	»
7.ª	240	»
8.ª	300	»
9.ª	360	»

El resultado fué que á la 6.ª bola correspondiente exactamente á tres horas de ebullicion, el desarrollo de la vida cesa bruscamente. Todas las bolas hervidas de 15 á 180 minutos inclusives, cedieron, mientras que las hervidas de 240 á 360 minutos inclusives se esterilizaron por completo. Lo mismo que en el caso de nabo, el cahombro sometido á largos períodos de ebullicion toma un tinte anaranjado obscuro.

Comparando dichos resultados con los obtenidos con el nabo, se notará que ambos, nabo y cahombro, muestran el mismo poder de resistencia; tres horas de ebullicion ó más les preserva de la infeccion.

Las infusiones de cohombro preparadas el 22 y el 28 de febrero estaban en conexion con la atmósfera á través de los tapones de uata; pero no se tomó ninguna precaucion para separar las materias del aire situadas encima de las infusiones.

Sin embargo, el 22 se prepararon cuatro bolas, se llenaron de aire filtrado, y en lugar de taparse herméticamente y sellarse, se dejaron abiertas; y el 28 se repitió la misma operacion en otras cuatro bolas. Cada uno de los dos grupos se sometieron á la ebullicion cuyo período fué respectivamente de 15, 30, 45 y 60 minutos. Ambos se enturbiaron, pero fué intereresante en extremo ver como se alejaba gradual y evidentemente la vida de los tubos hervidos durante 15 minutos hasta los hervidos durante 60. Si se hubieran podido contar los bacterios y representar gráficamente el resultado, la ordenada correspondiente al abciso 15 se hubiera hallado mucho más larga que la correspondiente al abciso 60.

El método de experimentacion descrito fué exactamente el empleado por Spallanzani y Needham; el mismo que empleó el malogrado profesor Wyman en el colegio de Harvard, mientras que en 1874 el Doctor W. Roberts de Manchester lo refundia completamente perfeccionándolo.

Dicho método puede dar lugar á graves dudas. El aire está aprisionado en las bolas selladas con sus materias en suspension, de manera que el calor no solamente ha de destruir los gérmenes de la infusion, sino tambien los esparcidos en la atmósfera contenida encima de la misma; y no está probado que el calórico suficiente para destruir las materias en suspension en un líquido, obre eficazmente cuando los gérmenes están diluidos en un gas ó en un vapor; por consiguiente, hay un motivo de error que existe en los experimentos de Spllanzani, de Needham, de Wyman, de Roberts y en los descritos del propio Tyndall, motivo de error que impide conocer el límite exacto de resistencia de las infusiones.

En una palabra, semejantes operaciones no pueden indicarnos con exactitud la temperatura en que se esteriliza una solucion, puesto que los gérmenes que oponen la resistencia á la esterilizacion, en vez de pertenecer á la infusion, pueden pertenecer á la atmósfera.

Los casos más admirables de resistencia á la esterilizacion observados por Wyman, son los que se presentan usando el indicado método experimental.

Además, la accion posible del aire infeccioso, se halla todavia aumentada por el hecho de que el volúmen del líquido empleado es muy débil con relacion al del aire contenido encima del mismo. En algunos experimentos de Tyndall el volúmen de aire fué más de treinta veces el de la infusion. Esto es lo que claramente demuestra la figura 15, tomada de una memoria de Wyman (1).

(1) *Silliman's American Journal*, volúmen XXIV, página 80.

§ 18

Cambio de aparato.—Nuevas experiencias con el aire filtrado.

Teniendo muy presentes Tyndall las causas posibles de error que acabamos de exponer, tomó acertadas medidas á fin de evitarlo ú obrar de manera que no hubiera lugar á duda. Así, el dia 2 de enero de 1877 se prepararon una infusion de nabo (dens. 1006) y otra de

melon (dens. 1008), é introducidas en una série de bolas de pipeta de la siguiente manera: el extremo A, (fig. 16) de un tubo en forma de T, fué puesto en conexion con una bomba de aire, estando el otro extremo cuidadosamente tapado con algodon en rama, mientras que el tercer brazo de dicho tubo estaba unido al cuello de la bola de pipeta A, con ayuda de un tubo de cautchuc. Una porcion del mismo tubo provisto de una pinza P se sujetó igualmente al cabo del tubo en el punto extremo de dicha forma T tapado con algodon.

La bola A, se vació y se volvió á llenar por tres veces consecutivas, estando cerrada la pinza P, y luego se llenó de aire filtrado durante tres veces, estando abierta; á la tercera operacion se elevó la bola á una alta temperatura por medio de un pico de Bunsen y por último se llenó de aire filtrado. Se sumergió seguidamente en agua fria como el hielo, durante un minuto, luego, despues de haberla apartado, se separó del tubo en dicho punto extremo de la forma T, virtiendo la infusion por medio de una delgada pipeta representada por *f*, *e* (fig. 16).

Los motivos que indujeron á Tyndall á obrar de tal manera, fueron los siguientes: se sabe que al cambiar la helada temperatura del agua por el aire cálido del laboratorio, se produce una expansion en el aire interior de la bola. Dicha expansion ó dilatacion del aire ocasiona una ligera corriente de dentro á fuera, la cual impide la introduccion de aire contaminado. La entrada de la infusion en la bola produce tambien la salida del aire interior. Al propio tiempo se calentó ligeramente el vacio de la pipeta que solo ofrecia un débil volúmen en el cuello de la bola, por la misma razon desarrollada antes y la cerró perfectamente con ayuda de un tapon de algodon. El aire que se filtrara á través de dicho tapon para reemplazar el desalojado por el calor, no podia ocasionar ningun perjuicio, puesto que se filtraria antes de introducirse en la bola. El cuello de ésta se cerró herméticamente y selló, sometiéndose durante diez minutos la infusion á la temperatura del agua hirviente. Transcurrido un espacio de tiempo que no fué menor de doce horas, los extremos cerrados y sellados fueron separados con cuidado haciendo para ello uso de la lima.

En los experimentos verificados el 28 de diciembre, el nabo y el melon sometidos á un período de ebullicion de diez minutos, cedieron completamente. En esta última, gracias á las precauciones tomadas, dos de las seis bolas de nabo y tres de las otras tantas de melon quedaron perfectamente estériles. Sin embargo, este resultado debe considerarse como excepcional porque en los sucesivos experimentos no se reprodujo en tan gran escala.

El 4 de enero se practicó una nueva série de experimentos. Las bolas de pipetas empleadas, fueron primeramente lavadas, con exquisito cuidado, con ácido fénico, luego conservadas todo cuanto fué posible al abrigo del aire ordinario. En seguida se sumergieron en una solucion de potasa cáustica y enjuagadas con agua destilada. No se sometieron á la accion de la llama Bunsen. Las infusiones empleadas fueron: el nabo (dens. 1006) y elmelon (dens. 1008), ocho tubos de cada substancia.

Desde luego no hubo una seguridad completa acerca de si la columnilla líquida al deslizarse por el extremo de la pipeta habia ó no arrastrado consigo y depositado en el cuello de la bola B, cierta cantidad de aire; por cuyo motivo se juzgó conveniente modificar la introduccion del modo siguiente: el extremo *a*, del tubo de vidrio en forma de T empleado en los experimentos precedentes fué alargado y adelgazado de manera que no presentara más que un leve orificio. El mismo tubo fué doblado en ángulo recto en el propio lado (fig. 17). El brazo que ponia en conexion la bola con la bomba de aire fué igualmente alargada y adelgazada para ser introducida en el cuello de la última. Dicha bola y el tubo en forma de T se unieron como antes por medio de un tubo de cautchuc. El extremo *b*, se cerró tambien con un tapon de algodon en rama convenientemente apretado y provisto de una pieza P. Obrando de esta suerte quiso Tyndall forzar el líquido á descender lo más apartado posible del cierre de cautchuc que unia ambas piezas, á fin de que no fuese posible la penetracion de otro aire más que del filtrado.

Cada bola fué vaciada de la manera ya descrita en los anteriores experimentos y llenada tres veces alternativamente. Antes de llenarse por última vez fueron sumergidas durante un minuto poco más ó menos en agua helada á fin de hacer que el aire interior fuese más denso que el exterior. Una vez cerrada la pieza P, se retiró el aparato por completo de la bomba de aire. Al retirarse la bola de agua helada para ser trasladada á la cámara cálida se produjo un ligero escape de aire.

El líquido se introdujo del modo siguiente: estando sumergida la punta *a*, en la infusion se situó la bola B en el agua hirviendo. Tuvo lugar inmediatamente un escape de aire por la punta *a* y la solucion experimentó una ebullicion: así que ésta cesó, se trasladó la bola á un baño de agua helada; el aire interior se contrajo y por efecto de la presion atmosférica la infusion ascendió hasta llegar á invadir el tubo. A pesar de eso, la cantidad de líquido obtenida por esa primera inmersion en el agua helada no fué suficiente para cargar la bola; pero repitiendo varias veces la misma operacion sin retirar la punta *a* de la infusion, se llegó á obtener la cantidad suficiente de líquido. Por último, el cuello de la bola se separó del tubo en forma de T aserrando el de cautchuc. Se calentó ligeramente acto seguido la bola á fin de poder dar salida al aire que pudiera contener y se aprovechó al propio tiempo la corriente que se estableció con el exterior para tapar con un tapon de algodon en rama el cuello de la misma; hecho lo cual se lacró el tapon limando la punta una vez enfriada.

No es nuestro propósito dar aquí una relacion circunstanciada de los numerosos experimentos verificados por Tyndall con semejante método, ni la variedad de infusiones empleadas para demostrar la eficacia del mismo; pero sí tendremos que manifestar que á pesar de todos sus minuciosos cuidados, los resultados fueron contradictorios. Algunas veces el resultado obtenido en un experimento parecia no dejar lugar á duda de ninguna especie, pero desgraciadamente la repeticion del mismo—que no dejaba de efectuarse en todas ocasiones—demostraba lo contrario; el satisfactorio resultado obtenido en un experimento era solo debido á un puro accidente, puesto que otro nuevo experimento efectuado en idéntica forma y cuidadosamente tratado, hasta con exceso de minuciosidad, daba un efecto contraproducente. Así que, se puede asegurar que en el transcurso de sus experimentos, Tyndall efectuó muchas veces la esterilizacion en un período de ebullicion que repitiéndolo veinte veces en la propia forma no pudo obtener el mismo resultado. Se ven por ejemplo en sus colecciones situadas una al lado de otra, dos séries de infusiones orgánicas, la una tan clara como el agua destilada, habiendo alcanzado volverse estéril por ebulliciones de cinco á diez minutos y la otra conteniendo las mismas infusiones hervidas durante 30, 120 ó 330 minutos respectivamente, y sin embargo, están completamente turbias y cubiertas de espuma tanto una como otra. Puede deberse tal vez y á pesar de todo, á otras causas, distintas de la manera de obrar en semejantes casos.

Varias semanas de asiduo trabajo se consagraron á dichos experimentos, pero como ya hemos indicado antes, no podemos describirlos todos. Indicaremos, con todo, otro de los métodos empleados: se prepararon dos bolas de pipetas que tenian su cuello alargado y adelgazado de tal modo que terminaban en una punta finísima: puesto el extremo abierto en conexion con la bomba de aire, la bola vacióse y llenóse en tres distintos intervalos, de aire filtrado: en la última operacion la bola se cargó de aire purificado á $^1/_3$ de atmósfera, y mientras que esta presion se mantenia con la bomba, el extremo puntiagudo del tubo se lacró; inmediatamente despues se calentó cada bola casi al rojo en la llama de un pico Bunsen: se cargó introduciendo la punta lacrada en una infusion y rompiéndola dentro del líquido: la solucion ascendió hasta que se llenaron las dos terceras partes de la bola y luego retirando de ella el extremo consabido, volvióse á lavar de nuevo. Así se ejecutaron un gran número de experimentos. Sus resultados condujeron evidentemente á la conclusion de que los gérmenes resistentes no estaban solo y enteramente circunscritos al aire, sino que una parte sobrevivian en el líquido.

§ 19

Prueba final de que los gérmenes resistentes están contenidos en la infusion.— Ejemplos de resistencia á la vez en los líquidos ácidos y en los neutros.

Hé ahí una fase de la cuestion que dió mucho que pensar á Tyndall en la época á que nos referimos: ¿Los gérmenes que en las circunstancias descritas antes producen la vida, han sido producto de la infusion durante la ebullicion? El líquido, como se recordará, debia atravesar el cuello de la bola y no podia dejarla sin depositar en él adherido un revestimiento. Tyndall, creyó que dicho revestimiento podia secarse por la evaporizacion, dejando así, tras él, gérmenes en condiciones del todo diferentes á las del líquido. A gérmenes expuestos de ese modo, no al calor del agua, sino al mucho menos eficaz de una mezcla de vapor y aire, pudiera ser debida la vida observada. Antes de referirse á la proposicion de que los gérmenes sobrevivientes debian estar contenidos en el líquido, le fué imposible á Tyndall comprender los resultados obtenidos.

El mal á pesar de todo estaba en parte disminuido por el hecho de que la bola estaba cargada nó por su propio cuello, sino por un tubo de ángulo recto introducido en dicho cuello. De todos modos, una porcion del cuello y de la superficie superior de la bola, estaban invariablemente bañadas por el líquido. Esta dificultad desapareció soldando el extremo del tubo lateral hácia el centro de la bola y forzando á la infusion con ayuda de la presion atmosférica, hasta tanto que la superficie del líquido alcanzase claramente su nivel encima del orificio lateral. En dicho punto el líquido no podia bañar ninguna superficie con la cual no debiese estar en contacto permanente.

El método elegido para cargar las bolas fué el siguiente: en primer lugar la bola tenia la forma representada en A figura 18, obtenida así directamente de la fábrica. Su cuello se tapó con uata (ó sea algodon en rama) *c*, luego se cerró herméticamente como se representa en B de la propia figura 18. El tubo lateral se hizo alargar y adelgazar hasta volverle casi capilar en el centro *o* y en el centro *p*. El extremo *n* fué puesto en conexion con una bomba de aire por medio de la cual se vació la bola, y después de dos ó tres lavados, llenándola y vaciándola repetidas veces, se le quitó cuidadosamente el aire filtrado y mantenido á una presion de $^1/_3$ de atmósfera. Mientras que la bomba conservaba dicha presion al interior, el tubo capilar *p* se cerró á la llama de la lámpara con el soplete. La bola y sus accesorios se calentaron casi al rojo en la llama Bunsen, á fin de que quedaran destruidos los gérmenes que acaso hubiese adheridos en sus paredes.

El extremo *p*, se introdujo entonces en la infusion: apoyado contra el fondo del vaso se rompió el cabo cerrado. La presion exterior, de una atmósfera completa, no teniendo que vencer más que un tercio de atmósfera en el interior, obligó al líquido á entrar en la bola por el tubo lateral. La solucion ascendió así gradualmente hasta que alcanzó y aún fué más allá de este último. Una vez establecido el equilibrio entre la presion interior y exterior, el líquido llenó las dos terceras partes de la bola.

La infusion se extendió sin solucion de continuidad, de la bola B, al vaso en el cual el extremo *p* se hallaba sumergido, de modo que el aire impuro fué completamente desalojado del aparato. Una pequeña llama de gas fué cuidadosamente aplicada en *o*. El líquido se vaporizaba en el interior del tubo capilar y este vapor lo mantenia así á cierta distancia á derecha é izquierda del punto *o*. Tyndall aprovechó este momento para calentar bruscamente el pequeño tubo al rojo y cerrarlo á la llama de la lámpara, cortando el resto, y hecho lo cual, y ya cargado, presentó el

aspecto que marca la figura 18 en su tercera letra C.

El 20 de febrero se cargaron diez y seis bolas, siguiendo el propio procedimiento, ó sea por semejante método, de infusiones de viejo heno de Heathfield y de otro endurecido de Guildford que por lo tanto era fresco.

Se dividieron en cuatro grupos de cuatro bolas cada uno. Dichos grupos comprendian dos infusiones ácidas y dos neutras, las cuales fueron hervidas durante los períodos de tiempo siguientes:

1.er grupo.	10	minutos.
2.º »	20	»
3.er »	30	»
4.º »	60	»

Así que las bolas se enfriaron suficientemente, su extremo cerrado fué abierto con una lima.

El 21 de febrero, esto es, escasamente veinticuatro horas después de su preparacion, todas presentaban señales de vida. El 22 estaban turbias y presentaban bajo el punto de vista de la comparacion de las ácidas con las neutras, las condiciones siguientes:

1. grupo 10 minutos	Guildford neutro marcadamente más turbio que Guildford ácido. Espuma en el primero, mientras el segundo carecia de ella.
	Viejo Heathfield neutro imposible de distinguir del viejo Heathfield ácido. Ambos turbios y cubiertos de espuma. Color mucho más pálido.
2. grupo 20 minutos	Guildford neutro marcadamente más turbio que Guildford ácido.
	Viejo Hathfield neutro más turbio que viejo Heathfield ácido.
3. grupo 30 minutos	Guildford neutro un poco más turbio que Guildford ácido: diferencia apenas perceptible.
	Viejo Heathfield neutro más turbio que el viejo Heathfield ácido; el primero con espuma y el segundo sin ella.
4. grupo 60 minutos	Guildford neutro marcadamente más turbio que Guildford ácido; el primero con espuma y el otro sin ella.
	Viejo Heathfield neutro un poco más turbio y algo más espumoso que el viejo Heathfield ácido: débil diferencia.

En vista de semejantes resultados, Tyndall opinó que bastaban para que pudiera considerarse como absolutamente cierto que los gérmenes resistiendo la esterilizacion estaban contenidos en el líquido, puesto que dadas las precauciones tomadas, era imposible que hubiesen sido introducidos con y por el aire.

El propio dia 22 de febrero, otros grupos de bolas á fin de seguir la comprobacion fueron cargados de la misma manera antes indicada y con la misma clase de infusiones descrita. Los períodos de ebullicion fueron estos:

1.er grupo.	90	minutos.
2.º »	120	»
3.er »	180	»
4.º »	240	»

Como precedentemente se verificó la operacion á la vez tambien en infusiones neutras y ácidas. Hé aquí cuales fueron los resultados: el dia 23 por la noche, esto es, veinticuatro horas despues de su preparacion, todas las bolas presentaban á la vista de un experimentador acostumbrado á distinguir claramente, ó sea ejercitado en la práctica, principios de enturbiamiento. El dia 24 siguiente á las dos de la tarde la vida hormigueaba en ellas. Las del heno viejo de Heathfield tanto ácidas como neutras estaban turbias y cubiertas de espuma; las soluciones muy poco ácidas condujéronse sensiblemente como las neutras. Sin embargo, por lo que respecta á la infusion de Guildford, la espuma de las soluciones neutras era mucho más abundante y espesa que la de las soluciones ácidas.

Cuatro horas fué el máximum de tiempo que se dió á la ebullicion en estos experimentos. El 27 del propio mes de febrero este período fué todavia de mayor duracion: cuatro grupos de bolas cargadas de infusiones, de ambas clases de heno mencionadas, fueron hervidas durante el siguiente lapso de tiempo:

1.er grupo.	300	minutos.
2.º »	360	»
3.er »	420	»
4.º »	480	»

Antes se hicieron tambien hervir infusiones de viejo heno de Lóndres y Colchester, durante cinco horas, infusiones que consecutivamente se mostraron completamente es-

tériles. Aquí tambien todas las bolas hervidas durante cinco, seis y siete horas quedaron esterilizadas, conservándose límpidas y brillantes. Lo propio aconteció con el grupo de bolas hervidas durante ocho horas con una excepcion; ésta fué la de una infusion neutralizada de Guildford que se enturbió y cubrió de espuma. Teniendo en cuenta el cuidado con que fué cargada dicha bola, así como tambien la manera de introduccion, era imposible admitir que la vida observada pudiese ser el resultado de los gérmenes exteriores. Gracias al endurecimiento y á la disecacion del heno, gracias tambien á la falta de contacto con el líquido ó á cualquier otra causa, los gérmenes tambien pueden haber resistido á la ebullicion prolongada á la cual se les sometió.

¿Acaso la *influencia destructiva del calor*, habia privado á la mayor parte de las bolas hervidas durante ocho horas, de su poder de generacion expontánea? Cualquiera que sea la significacion que quiera darse á tales razonamientos, no es difícil la respuesta ni dudosa: la destruccion fué la misma para todas las bolas, y sin embargo, aparece una de ellas —la cual retirada del agua hirviendo estaba perfectamente clara,—que, dos dias despues se enturbió y dió manifiestas señales de vida interior, manifestándose animada por organismos. Además, bastaba con lavar con agua destilada y perfectamente esterilizada una pequeña porcion de heno, é inocularle la infusion clara de una de las bolas hervidas durante ocho horas, para volverla turbia en menos de veinticuatro horas, ó hablando en términos más precisos, catorce horas de reposo en la cámara caliente, fueron suficientes para que la infusion sometida á ocho horas de ebullicion, apareciese animada por el incesante hormigueo de los bacterios. Así la solucion á la cual se restituyen los gérmenes, se muestra perfectamente apta para desarrollar la vida y solo la destruccion de los gérmenes contenidos antes es lo que la vuelve estéril.

Debemos llamar la atencion acerca el hecho de que las especies particulares de heno, de las cuales se sirvió Tyndall estaban tan secas y tan endurecidas que hasta después de cinco horas de digestion la densidad de las infusiones apenas llegaba á la del agua destilada. Esto sucedió más particularmente con los viejos henos de Heathfield y Colchester, cuyas infusiones aunque fuertemente coloreadas, alcanzaban invariablemente un peso específico de 1,000; el de las de viejo heno de Lóndres eran por lo común de 1,003, mientras que las del nuevo heno de Heathfield alcanzaban sin dificultad 1,007 (1).

Como se ha indicado, jamás se consideró un resultado de esterilizacion como real, sino después de haberse verificado repetidos experimentos con las propias substancias é idénticos procedimientos. Ya se han descrito antes las confirmaciones parciales de los resultados obtenidos por Tyndall. Añadiremos que el 2 de marzo preparó las mismas infusiones, que se conservaron en una sala fresca durante la noche y á la mañana siguiente se introdujeron en cuatro grupos de bolas. Las soluciones estaban brillantes todas. Durante la ebullicion se quebró una de ellas, de modo que faltó uno de los términos de comparacion desde entonces á las séries establecidas. Creyóse preferible no servirse del grupo hervido durante cuatro horas, de modo que solamente pudieran ser motivo de atencion las infusiones sometidas á ebulliciones de una, dos, tres, cinco y seis horas.

Una bola correspondiente al grupo de cinco horas y otra del grupo correspondiente á seis horas, se enturbiaron y llenaron de copos en la masa líquida, pero sin espuma en la superficie. Como en el caso de la bola hervida durante ocho horas, no hay duda que el desenvolvimiento de la vida debia su origen á la resistencia excepcional de los gérmenes que se habian mantenido inalterables en la infusion.

---

(1) Un experimento comparativo acerca de los pesos de las substancias en seco ó nó, descrito en «los procedimientos de la Real Sociedad» (1877 vol. xxv p. 500), puede ser citado aquí como ejemplo de la manera como la desecacion restringe la infusion y tiende á conservar así la integridad de los gérmenes; se supuso que las sales minerales primitivas del heno estaban todavia retenidas en los viejos ejemplares; sea como fuere, el agua caliente, al parecer, sólo tiene sobre ellas un poder extractivo insignificante. La resistencia del heno con respecto á esto, parece estar en relacion con la de sus gérmenes.

Por los múltiples experimentos de carácter análogo y tambien por otra índole de consideraciones, Tyndall se armó de paciencia y aguardó con calma la prueba á la cual habia sometido los gérmenes. Y por otra parte tuvo como una intuicion de la causa ocasional de cuanto habia tenido lugar en los experimentos anteriores. El caso aislado de que antes se ha hecho mérito, fué el rayo de luz que le aclaró semejante misterio. Antes de la introduccion en el laboratorio de los gérmenes, particularmente resistentes que invadian el heno duro y desecado, las infusiones de toda clase, heno inclusive, se habian esterilizado con certeza y facilidad. Pero los viejos henos de Heathfield, de Lóndres, de Guildford y de Colchester, hidrataron la atmósfera del laboratorio de miasmas pestilentes, de manera que las soluciones de todas las demás substancias fueron víctimas de esas ondas aéreas inficiosas ó impuras, de esos miasmas extraños á las mismas. El mal resultado obtenido en la esterilizacion de las substancias de cohombro, nabo, remolacha, alcachofa, melon, vaca, carnero, sollo, arenque y otras, fué pues debido únicamente á ello, esto es, á que las infusiones de las citadas substancias fueron preparadas en una atmósfera viciada ó puestas en contacto con vasos infectados por los gérmenes que habian podido resistir una ebullicion de 240 minutos. Es evidente, segun esto, que decir que tal infusion se ha esterilizado á una temperatura dada, es cosa que nada significa, puesto que la temperatura á la cual una infusion cualquiera se esteriliza, depende del carácter y de la condicion de los gérmenes que contiene. La temperatura destructora de éstos, puede ser de más de tres horas en Lóndres y de menos de tres minutos en Kew (1).

Vamos á citar dos ejemplos notables de energia inficiosa de gérmenes del heno desecado, en infusiones que, dadas las condiciones ordinarias, son facilmente esterilizadas: el 31 de marzo, cinco bolas de pipetas se cargaron con una infusion clara de vaca y se hirvieron durante los períodos de tiempo siguientes:

1.ª bola.	60	minutos.
2.ª »	120	»
3.ª »	180	»
4.ª »	240	»
5.ª »	300	»

Una vez enfriadas se quebraron sus extremos cerrados y el aire fué admitido á través de los tapones de uata. Todas las bolas se llenaron de organismos. En la cabaña improvisada, distante mucho menos de ocho metros solamente, la misma infusion de vaca, como se recordará hemos dicho antes de ahora, fué esterilizada en cinco minutos.

Otro experimento idéntico tuvo lugar el dia anterior del antecitado ó sea el 30 de marzo, con una infusion clara de carnero. Ninguna de las cinco bolas que la contenian fué esterilizada. En todas se ve aún en la actualidad el hormigueo incesante de la vida bactérica. Que esto sirva de ejemplo á los que ejercen la industria de conservas alimenticias, que tengan presente los contagios del heno viejo ó de la hierba seca. Quizás más de una vez han sufrido alguna contrariedad sin atinar con la causa eficiente de la misma. Los experimentos que acabamos de referir son suficientes para que se den cuenta de ella y sepan en lo sucesivo á qué atenerse.

Pero la cuestion más interesante de cuantas puedan referirse á semejantes infecciones no es esta, sino otra que reviste una importancia de gran trascendencia. Nos referimos á la cirugía, porqué, ¿el cirujano acaso no puede tener que luchar con el propio enemigo en el ejercicio de sus funciones? ¿acaso no se le puede presentar la misma duda, dándole que pensar un retroceso inesperado en la curacion de

(1) Ya nos hemos ocupado en otra parte de la propagacion de los bacterios en la atmósfera, de la extension y agrupacion de estos gérmenes en el aire, con el nombre de *nubes bactéricas*. Si pudiéramos ver la distribucion de esas zonas de bacterios, si nos fuera dado apreciar semejante agrupacion atmosférica, sobre un prado por ejemplo, estamos persuadidos que la veríamos sin uniformidad alguna. Observaríamos que los citadoa gérmenes están dispuestos por grupos muy espaciados entre sí, como las violetas en los elevados montes, ó las amapolas en la llanura. Por lo tanto, siguiendo el ejemplo propuesto, diremos que, dos idénticos haces de heno sacados del mismo prado, pueden ser distintos, pueden obrar diferentemente; uno puede estar hidratado de gérmenes y otro no.

una herida, sin causa ni motivo fundado al parecer? ¿los gérmenes particulares cuya accion hemos estudiado nosotros sobre la carne y el pescado, ó sus infusiones, que es lo mismo, no pueden darle que sentir? ¿se sabe acaso positivamente la influencia que ejercen ó pueden ejercer en las salas de un hospital? ¿no podrian ser causa de la misma putrefaccion de las heridas ó sea gangrena?... Y en este caso, ¿se destruirian con la aplicacion de los desinfectantes que ordinariamente se usan, ó de otros más ó menos contundentes? ¿cuáles habian de ser éstos?... Cuestiones son estas cuya alta importancia no desconocerán los ilustrados partidarios del sistema antiséptico y á las cuales trataremos de contestar por ellos.

§ 20

Observaciones acerca las infusiones ácidas, neutras y alcalinas.

En el párrafo anterior hemos mencionado como punto de comparacion lo acaecido con las infusiones ácidas y neutras. No puede caber duda alguna que para la nutricion y la multiplicacion de los bacterios, las infusiones ácidas son menos favorables que las soluciones neutras ó ligeramente alcalinas. Las primeras, puestas en contacto con la atmósfera de la sala ó aire ordinario, á veces desarrollan haces de *penicillium,* mientras que no aparece ningun rasgo, traza ó señal de bacterio. Tambien es verdad que muchas veces una temperatura conveniente puede prevenir la aparicion de la vida en una infusion ácida, mientras que es completamente impotente para esterilizar una infusion neutra ó alcalina.

Durante el curso de las presentes investigaciones, hemos tenido ocasion de observar muy á menudo este hecho. Teníamos, por ejemplo, un gran número de cámaras herméticamente cerradas, sometidas al procedimiento de *calentamiento discontinuo* que describiremos más tarde; con este aparato se repitieron muy á menudo los experimentos acerca la proporcion del calórico, demostrándose que si volvia las infusiones de heno ácidas, definitivamente estériles, era siempre insuficiente para verificar la misma transformacion en infusiones neutras. Además, siempre que las soluciones hervidas durante cinco, seis y ocho horas se infeccionaban, la vida principiaba siempre á desarrollarse en las infusiones neutras. Siguiendo el mismo órden de ideas añadiremos todavia el hecho siguiente: El 22 de marzo una infusion de heno endurecido de Guildford fué dividido en dos partes, de las cuales una fué neutralizada, quedando la otra ácida. Cinco bolas de pipeta se llenaron de la primera y cinco de la segunda. Despues de haberse cerrado herméticamente se sumergieron en el agua é hirviéronse durante ocho horas. Todas las bolas ácidas se esterilizaron por este tratamiento, mientras que tres de las cinco neutras en dos dias se enturbiaron y cubrieron de espuma.

¿Cómo se esplica semejante resultado divergente? Despues de lo que hemos expuesto anteriormente, no es posible seguir la opinion de Pasteur segun la cual los gérmenes escaparían á la accion destructora del calor por no estar humedecidos por líquidos alcalinos ó neutros. El estudio comparado de la accion del agua alcalizada y acidulada sobre el heno parece dar á entender que los gérmenes se humedecen más rápidamente con la primera que con la segunda. Pero nos parece que aquí no se trata de una cuestion de humedad, sino más bien de poder nutritivo. Dos gérmenes de bacterios de igual vigor descendiendo de la atmósfera uno sobre una solucion neutra ó ligeramente alcalina y otro sobre una infusion ácida, dejan pronto de tener una misma fuerza ó vigor. La vida del uno está *favorecida* por el medio en el cual se halla sumergido, mientras que el otro está solamente *tolerado* por el líquido que le circunda.

Cuando el medio ambiente se halla elevado á un grado de temperatura desfavorable á

ambos gérmenes, uno de ellos resiste más que el otro, puesto que si una accion igual se ejerce en organismos de fuerza diferente, cuanto más débil sea uno de ellos más resistirá, y si la temperatura está suficientemente elevada ó se prolonga durante tanto espacio de tiempo que por necesidad haya de ser mortal, el organismo más débil será el que sucumbirá primero.

Además un germen á punto de perecer en una infusion ácida puede revivir si se le traslada á otra neutra ó alcalina, de la misma manera que una alimentacion sana y convenientemente dirigida puede restablecer á un moribundo que sucumbiria con otra mal sana ó mal apropiada á su estado.

Estas consideraciones elementales fundadas en el hecho demostrable y demostrado de que los gérmenes de los bacterios se nutren mejor en infusiones neutras que en las ácidas, creemos que es suficiente para explicar la diferencia de accion observada en el caso á que nos referimos. Esta es la opinion de Tyndall fortificada por su larga experiencia, maduras reflexiones y profundas observaciones practicadas (3).

§ 21

Observaciones acerca las diferencias que han de establecerse entre los gérmenes de los bacterios y los propios bacterios.

La falta de distincion entre esos gérmenes refractarios y los organismos sensibles á los cuales dan nacimiento, ha sido el orígen del gran número de errores cometidos por los sábios que se han ocupado de la biogénesis. El doctor Burdon Sanderson, por ejemplo, en su importante memoria (1) ha descrito experimentos de los cuales nos parece que se han sacado conclusiones falsas. Expuso al aire ordinario unos vasos que contenian la solucion de Pasteur, que inoculó enseguida con bacterios adultos capaces de vivir y multiplicarse libremente; hasta hizo á viva fuerza penetrar el aire á través de la solucion y, hallando que, á pesar de que la *torula* y el *penicilium* se hubiesen desarrollado de una manera lujuriosa, carecia por completo de bacterios, sacando de ahí la consecuencia «que no solo los modos de crecimiento y de orígen de los bacterios son del todo diferentes de los de las setas, sino que tambien la materia germinativa de que se derivan los primeros *no existe en el aire ordinario* (2).»

Y más lejos el propio doctor Sanderson vuelve sobre la misma interpretacion par confirmarla: «En mis precedentes experimentos,» dice, «he demostrado que aunque el *torula* y el *penicilium* aparecen invariablemente y sin excepcion en todos los líquidos nutritivos cuyas superficies estén expuestas al aire libre cualquiera que sea su modo de preparacion, nada parecido sucede con los bacterios (4).» Y aún refiriéndose á otros experimentos dice: «El resultado demuestra que el aire ordinario está enteramente libre de bacterios vivientes (5).» Su conclusion general

(1) *On the origin and distribution of bacteria in Water, and the circumstances which determine their existence in the Tissues and Liquids of the Living Body.*

(2) *Appendix to the Thirteenth Report to the Medical Officer of the Privy Council four 1871 p. 335.*

(3) Oigamos lo que añade el propio Tyndall acerca el particular: Al observar detenidamente, dice, como se conduce el aire durante la ebullicion, he de suponer que el bajo de una solucion alcalina se halla en condiciones físicas diferentes del bajo de otra ácida, y por lo tanto debo atribuir á ese fenómeno la diferencia de poder nutritivo. No tengo noticia de que se hayan practicado investigaciones comparativas acerca la absorcion del aire por los líquidos ácidos y neutros. Sin embargo, creo que es un estudio digno de toda consideracion y que no debe relegarse al olvido.

(4) Apéndice p. 338. Aunque el doctor Sanderson habla de *«todos los líquidos nutritivos»* parece ser que no elija más que una solucion mineral, dejando á un lado las infusiones animales ó vegetales.

(5) Apéndice p. 339.

con respecto al desarrollo de los bacterios en los líquidos orgánicos, es que: «el agua es el único agente de contaminacion, propagacion ó contagio.»

Acerca dichos experimentos y las conclusiones que se han deducido, el doctor Bastian (1) ha formado un argumento que seria de gran peso si su base fuese cierta. Haciéndose cargo de la memoria presidencial de la asociacion británica de Liverpool (2), se expresa así: «Hablando de los gérmenes vivientes de los bacterios el profesor Huxley concluye diciendo: «considerando su pequeñez y la ámplia difusion de los organismos que los producen, no es posible concebirlos más que esparcidos por millares en la atmósfera.» Si el profesor Huxley hubiese verificado por sí mismo algunos experimentos minuciosos acerca de ello, no habria jamás emitido la hipótesis de que se trata... En efecto, el profesor Burdon Sanderson, yo mismo, continua Bastian, y otros, hemos demostrado que los gérmenes de los bacterios no existen generalmente en el aire, y esto es al presente una doctrina aceptada por la mayoria, por más que segun el profesor Huxley sea imposible de concebir.» Los «otros» á que se refiere el doctor Bastian comprenden sin duda al célebre naturalista Colin.

El doctor Bastian tiene indudablemente razon al decir que la *doctrina* que él enuncia está al presente *aceptada por la mayoria*. Pero la conducta de casi todas las infusiones animales ó vegetales expuestas al aire libre contradice su teoria. No está de acuerdo con los experimentos efectuados con infusiones de melon, nabo, cohombro y heno relacionadas en otras memorias. Cuando tales infusiones han sido esterilizadas por seis ú ocho horas de ebullicion, quedan, si se las conserva al abrigo de los gérmenes de bacterios contenidos en el aire, eternamente estériles; pero así que se infectan, sea voluntariamente, sea por casualidad, con los gérmenes atmosféricos, se las encuentra, seis ú ocho horas despues de la infeccion, invadidas por completo por los bacterios que hormiguean en número infinito. Tan cierto es que el aire de Lóndres tiene en suspension gérmenes de esos séres microscópicos, como lo es que las chimeneas de la propia ciudad contienen y despiden humo.

Lo que los experimentos, en realidad muy importantes, del doctor Sanderson prueban, es que una solucion mineral capaz de alimentar los bacterios, cnando estos están completamente desarrollados, es insuficiente para efectuar el paso del estado de gérmen al de organismo definido. Puede, por ejemplo, nutrir al pollo, pero no provocar su salida del huevo. Como ha indicado perfectamente Tyndall, lo que demuestran esos experimentos no es la ausencia de gérmenes de bacterios en el aire, sino la inaptitud de la solucion mineral para el desarrollo de los mismos.

Hé aquí otro de los experimentos descritos por el doctor Sanderson en su memoria: «Una varilla de vidrio fué cargada de bacterios, y sumergida en una solucion cuya superficie se hallaba cubierta de una espuma viscosa consistente únicamente en estos organismos incorporados en una ganga gelatinosa. Se dejó secar la varilla exponiéndola al aire libre durante algunos dias, luego se la introdujo en cierta solucion hervida que se queria ensayar. El 6 de Febrero el líquido estaba ya lechoso y poblado de bacterios.»

«A fin de determinar el efecto de una disecacion más completa, fué evaporado el contenido de una probeta consistente en un centímetro cúbico de agua helada que se tiene la seguridad de que era *cimótica*, hasta la sequedad, en un incubador y guardada durante algunos dias á una temperatura de 40° C. El 20 de Febrero el vaso secado fué cargado con una solucion hervida y enfriada, luego tapado, segun costumbre, con un tapon de uata. Examinado el líquido con el microscopio el dia 2 de Marzo se halló lleno de *torula*, pero sin ningun bacterio. Parece, pues, que los gérmenes de estos últimos, se vuelven inactivos por la simple disecacion.»

Estos experimentos han sido mirados como concluyentes con respecto á la disecacion. Aun más, son admitidos como aplicables no solo á los bacterios, desarrollados, sino también, sin restriccion, á los gérmenes de que se

(1) Evolucion p. 44.
(2) Asociacion británica. Memoria de 1870.

derivan. «Para mantener su pauspermismo, dice el doctor Bastian (1) en vista de sus propios experimentos, Spallanzani no pudo por menos que reconocer que los gérmenes de los organismos inferiores gozaban, lo mismo que las simientes, la propiedad de revivificarse despues de la desecacion. La ciencia moderna declara, sin embargo, que no tienen semejante propiedad. El profesor Burdon Sanderson ha demostrado que no solamente los gérmenes de bacterios se vuelven inactivos por la simple desecacion, sin calor, esto es, por su exposicion al aire á una temperatura de 104° Fahr., sino tambien que sucede lo propio á los bacterios adultos.» Así comprendida semejante conclusion es insostenible. Se podrían citar un sin fin de experimentos en apoyo de lo que afirmamos, pero creemos fundadamente que bastarán uno ó dos, debidos al propio Tyndall.

Un hacecillo de heno viejo de Heathfield fué lavado con agua destilada, que Tyndall habia colocado en una copa de champaña. Esta copa se introdujo en una estufa hasta tanto que se evaporó el agua por completo y se dejó el resíduo seco durante algunos dias. La temperatura de desecacion del doctor Sanderson era de 104° Fahr., la de Tyndall fué de 120°, y el período de desecacion mucho mayor que el empleado por aquel.

Arañando el fondo de la copa de champaña, á fin de quitar un poco de aquel resíduo seco, Tyndall extrajo una cantidad insignificante é infectó con ella una bola que contenia una infusion de heno que habia sido esterilizada por ocho horas de ebullicion. En el momento de la infeccion, la infusion estaba marcadamente trasparente, pero cuarenta y ocho horas despues hormigueaban en ella los bacterios.

Con respecto á la doctrina que pretende que esos pequeños séres proceden de *particulas orgánicas muertas* en vez de gérmenes vivos (2) creemos que en nuestros dias ningun hombre de ciencia puede sostenerla.

Otro ejemplo: Tyndall habia tenido unos haces de heno suspendidos durante siete ú ocho semanas en las salas cálidas de los baños turcos situados en la calle Jermyn, infusiones expuestas durante todo ese tiempo á una temperatura de 140° Fahr. y mucho mayor. Los gérmenes adheridos á dicho heno no fueron muertos por la desecacion. Así que se infectó una infusion animal ó vegetal con él, dió nacimiento á un enjambre de bacterios en el mismo espacio de tiempo ordinario.

§ 22

Esterilizacion por medio del calentamiento discontinuo.

Observando la distincion entre los gérmenes y los organismos desarrollados, distincion acerca de la cual hemos insistido hace poco, y teniendo tambien en cuenta los cambios producidos ó que puedan producirse en la evolucion de una á otra forma, Tyndall esterilizó con infalible exactitud todas las infusiones mencionadas anteriormente, sin elevarlas por ello á una temperatura más alta de ebullicion que la citada, y hasta sin prolongar el calentamiento de una manera extraordinaria.

Las infusiones pueden esterilizarse á una temperatura inferior á la del agua hirviendo, mientras que la duracion de la ebullicion sólo puede ser la parte de tiempo más mínima de la empleada en los experimentos de que hemos hecho mencion en las anteriores citas.

Es un hecho indiscutible é indiscutido que los bacterios activos se mueren á una temperatura inferior de mucho á la del agua hirviendo. No hay duda tampoco que cierto espacio de tiempo, denominado por Tyndall *periodo latente,* es necesario para que puedan

(1) Evolucion, pág. 156.

(2) Evolucion, pág. 44.

los gérmenes duros y resistentes pasar al estado de organismos sensibles al calor.

Tambien creemos que se debe admitir que cuanto más se aproxima el gérmen al período-límite en el cual se transforma, más sensible es á la accion de la causa que puede destruir tan fácilmente el organismo ya definido. Actualmente podemos saber, con ayuda del rayo lumínico, cuál es aproximadamente el tiempo que necesitan los gérmenes para pasar al estado de bacterios. Admitamos que sean veinte y dos horas y supongamos que se somete á la temperatura de la ebullicion ó hasta á una temperatura inferior á la de ebullicion, los gérmenes, antes de su definitivo desarrollo, en el momento en que van á alcanzar el estado al cual una temperatura de 140° Fahrenheit les es fatal. Será probable de toda probabilidad que una temperatura de 212°, por ejemplo, ó de 200, y hasta de 150°, si se aplica durante un tiempo suficientemente largo, se mostrará funesta para los gérmenes, é impedirá la aparicion de otros organismos, todavía más sensibles, á los cuales dichos gérmenes están á punto de dar nacimiento.

Tenemos pues aqui una indicacion teórica que va á dar lugar á nuevos experimentos. No debe esperarse que todos los gérmenes de que estén cargadas las infusiones alcancen su desarrollo final por igual ó sea al mismo tiempo. Algunos serán más secos ó más duros que los otros y por consiguiente llegarán unos menos fácilmente que otros á la fase sensible al calor. De aquí que Tyndall sometiera sus infusiones á varios experimentos para alcanzar el resultado apetecido y que procediera de la manera que vamos á citar á continuacion:

El dia 2 de febrero veinte y cuatro pequeñas retortas, fueron cargadas de infusiones de heno y sometidas dia y noche á la ebullicion durante un minuto. La última ebullicion tuvo lugar el 3 de febrero por la noche. Los cuellos de las retortas habian sido tapados con uata; el aire interior sin embargo, no habia sido filtrado y relativamente la preparacion se habia efectuado sin aquel exceso de precauciones tomadas generalmente. Despues del último calentamiento las retortas se depositaron en una cámara cuya temperatura se mantuvo exactamente á 90° Fahr. Otras tantas retortas idénticas cargadas al mismo tiempo con la propia infusion, se hirvieron de una manera contínua durante diez minutos, tapándose durante la ebullicion y situándose luego en la misma cámara que las otras. Dos dias despues las primeras estaban todas turbias y cubiertas de espuma. Por otra parte, de las veinte y cuatro retortas que habian sido sometidas durante un tiempo mucho más corto á una ebullicion intermitente, doce quedaron claras y libres de espuma; las otras doce ó sea la mitad restante, quedaron turbias y con espuma como las primeras anteriores.

El mismo dia 2 de febrero, ocho bolas de pipeta fueron tambien cargadas con infusiones de heno; cuatro para cada infusion. El aire que invadia las infusiones era el ordinario del laboratorio. La totalidad de las bolas fué sometida á la temperatura de la ebullicion durante un minuto, al mismo tiempo que otras cuatro bolas conteniendo la misma infusion, fueron hervidas durante diez minutos contínuos y suspendidas al lado de las primeras.

Doce horas despues de la primera ebullicion, el grupo de ocho bolas estaba perfectamente brillante, y en estas condiciones se sometieron á un nuevo período de ebullicion igual ó sea de un minuto. El mismo dia por la noche se sometieron aún á la misma temperatura durante treinta segundos, operacion que se repitió el dia siguiente por la mañana. El líquido fué tratado de la misma manera dos veces consecutivas en diferentes veces, antes del experimento que acabamos de citar. El resultado final fué que la solucion que había hervido durante diez minutos estaba dos dias despues turbia y cubierta de espuma, mientras que dos meses despues las bolas cuyo total de ebulliciones parciales era de cuatro minutos, se hallaban todavia claras y libres de espuma.

Dichos resultados son fáciles de comprender: por la primera aplicacion del calórico, los gérmenes que se hallan en su momento crítico de desarrollo son destruidos y, antes que alguno de los demás pueda desarrollarse en bacterios, son nuevamente sometidos á un período de ebullicion. Esta, destruye los gér-

menes que están demasiado cercanos á su desarrollo final. En cada período subsiguiente de ebullicion, el número de gérmenes vivientes aun se disminuye hasta que quedan destruidos todos por completo. Si la infusion se halla entonces protegida del contagio exterior, queda para siempre inalterable; lo cual no sucede cuando los bacterios vivos, restos de heno, ó hasta las partículas de polvo seco del laboratorio, se mezclan á ella; que en este caso, el líquido esterilizado muestra á la vez su poder de entretener la vida de los bacterios adultos y de provocar su reproduccion, como así mismo su aptitud para transformar los gérmenes existentes en bacterios.

En la propia fecha tuvo lugar otro experimento con una série de bolas de pipeta cuyos cuellos estaban envueltos y tapados con algodon, de tal manera, que ninguna impureza de la uata podia caer en la infusion. Cuatro bolas fueron cargadas con una infusion de heno de Heathfield y otras cuatro de una infusion de heno de Lóndres: una porcion sacada de las mismas infusiones se introdujo al propio tiempo en otra série de bolas que se obstruyeron de la misma manera que las anteriores y que fueron sometidas á la temperatura de ebullicion durante diez minutos sin cesar. Las ocho bolas en primer lugar citadas, por el contrario, fueron sometidas á la ebullicion de una manera intermitente, esto es, sufrieron distintas ebulliciones parciales cuya suma de períodos empleados no pasó de cuatro minutos. El resultado obtenido fué el siguiente: mientras que la totalidad de bolas hervidas durante dichos diez minutos, cedió en menos de cuarenta y ocho horas despues de su preparacion, siete de las ocho bolas que fueron sometidas á una ebullicion discontínua ó parcial quedaron indefinidamente brillantes.

El 3 de febrero con el objeto de darse cuenta exacta del nuevo método seguido, Tyndall hizo preparar infusiones de las especies de heno conocidas más refractarias. Habia cinco bolas de infusiones neutralizadas de Guilford y cinco formadas de una mezcla de viejo Colchester y viejo Heathfield. Dos bolas de cada infusion fueron cargadas al mismo tiempo y sometidas á la temperatura de ebullicion durante diez minutos. Las diez bolas al principio mencionadas no fueron hervidas, la más alta temperatura á que fueron sometidas no llegó jamás ni con mucho á alcanzar los grados de la de ebullicion. Pues á pesar de ello, las cuatro bolas hervidas durante diez minutos se enturbiaron y cubrieron de espuma, mientras que una sola de las diez citadas hizo lo propio, quedando las demás tan brillantes como el primer dia.

Luego, despues de lo expuesto, es evidente que doscientos cuarenta minutos pueden ser substituidos á diez sin alterar el resultado; mientras que cinco minutos de calefaccion discontínua pueden ser suficientes para lo contrario. Por tanto cinco minutos de calentamiento parcial pueden producir más efecto ó alcanzar mejores resultados que cinco horas de ebullicion.

En la propia fecha se cargaron otras tres bolas con una infusion ácida de heno de Lóndres y se sometieron á la ebullicion quedando brillantes y siguen lo mismo aún en la actualidad.

El 7 de febrero, cuatro tubos de Cohn llenos de una infusion de nabo, fueron sometidos en distintos intérvalos de tiempo á la temperatura de 250° Fahr. El tiempo total durante el cual fueron expuestos á dicha temperatura, no pasó sumado uno con otro de tres minutos. Las infusiones se esterilizaron por completo y todavia hoy siguen en el mismo estado; conservan aún la misma marcada transparencia de aquella época.

El método de calefaccion alternado ó discontínuo ha sido aplicado con buen resultado á las cámaras herméticamente cerradas. Los experimentos tuvieron lugar de la manera siguiente: Se exponia un baño de aceite á una temperatura de 300° Fahr. Los tubos de ensayo se sumergieron en el aceite de manera que la superficie de este cubria la de la infusion. Se elevaron seguidamente los tubos á la temperatura de ebullicion en la que se les mantuvo durante treinta segundos y luego se dejaron en reposo. Hé aquí otro método de calefaccion seguido tambien por Tyndall: En vez de sumergirlos en el aceite, los tubos se sumergieron durante dos ó tres minutos en agua hirviendo, luego se retiraron y secaron,

habiendo terminado la ebullicion con ayuda de una lámpara de espíritu de vino. Es un método muy práctico, mucho más susceptible de comprobacion por el observador que el baño de aceite. Con éste sucede á menudo efectivamente que las infusiones se distienden concluyendo por saltar fuera del tubo; mientras que la lámpara de espíritu de vino por el contrario, nos permite moderar la ebullicion, disminuyendo la intensidad de la llama. Por otra parte, puede usarse sin la necesidad prévia de la inmersion en el baño de agua caliente. Por lo regular la ebullicion fué repetida con intervalos de doce horas; pero con infusiones muy nutritivas y en el interior de una cámara bien caliente, los períodos deben ser más cortos. La práctica guiará al experimentador con respecto á este particular. La repeticion de la calefaccion debe siempre tener lugar antes que la infusion presente la más ligera tendencia á cambiar.

En los primeros dias del citado mes de febrero, una cámara herméticamente cerrada conteniendo seis tubos fué tratada por Tyndall por el procedimiento que acabamos de citar. La mitad de dichos tubos fueron cargados con una fuerte infusion de nabo y los restantes con otra de alcachofa de la propia fortaleza. Despues de dos dias de calefaccion discontínua dia y noche se las dejó reposar en una cámara caliente, en la cual quedaron perfectamente brillantes y todavia pueden verse en el propio estado hoy dia.

El 12 del mismo mes otra cámara de tres tubos herméticamente cerrado se cargó asimismo con una infusion de cohombro. Practicada la calefaccion de una manera intermitente por el método citado más arriba y dejándola reposar enseguida en una temperatura templada, los tres tubos quedaron completamente estériles.

Es indudable, en vista de semejantes resultados, que todo procedimiento que llegue á esterilizar los henos viejos, podrá esterilizar con mayor facilidad una infusion de cualquiera otra substancia. Por consiguiente, el resultado obtenido en las antecitadas tres cámaras cargadas con infusiones de aquél, completamente refractarias á la esterilizacion, que como se ha dicho lo fueron empleando el expresado método de calefaccion discontínua, prueban suficientemente la afirmacion anterior y la eficacia de dicho método para toda clase de infusiones.

Otros experimentos comparativos incontrovertibles, se hicieron empleando el propio método de calefaccion discontínua, y en vista de sus resultados, podemos permitirnos sentar la siguiente conclusion: el poder resistente de diferentes gérmenes está sometido al número de calefacciones necesarias para la esterilizacion.

En efecto, pueden observarse en el laboratorio de Tyndall dos tubos de ensayo que contienen la misma infusion y se hallan situados uno al lado de otro en la misma cámara herméticamente cerrada; uno de ellos fué sometido á la calefaccion cinco veces y el otro seis: el primero se halla enturbiado por completo, mientras que el segundo está perfectamente claro. Luego parece lógico suponer que los gérmenes más resistentes se sostuvieron con las cinco ebulliciones, pero no pudieron resistir la sexta, en la cual sucumbieron. Pueden observarse tambien otros dos tubos cargados con otra clase de infusion: uno de ellos sufrió la calefaccion siete veces, hallándose exuberante de vida, y el otro hervido una vez más ó sea sufriendo ocho veces distintas la calefaccion, se halla por el contrario en el más puro estado de limpidez, perfectamente estéril.

Creemos por lo tanto poder afirmar que, observando las precauciones debidas por supuesto, el uso del método de estirilizacion ultimamente descrito, es infalible, por más infecciosa que pueda ser la atmósfera ambiente. Pero en esto como en todo, en estos difíciles experimentos, en estas delicadas investigaciones, la sagacidad que en gran parte se debe al mayor ó menor natural desarrollo del espíritu de observacion, la habilidad que toma su orígen en la práctica y en la educacion, y el minucioso cuidado inherente á toda operacion, son cosas todas necesarias para poner el investigador ó experimentador al abrigo del error y afirmarle en el conocimiento de la verdad.

§ 23

Mortalidad de los gérmenes por medio de la falta de oxígeno, extraido por el vacio hecho con una bomba de Sprengel.

Debemos ahora describir otra notable manera de estirilizacion. El infinito número de organismos apiñados, esas grandes masas que bullen por la superficie del líquido formando agregados espumosos, demuestra suficientemente que el aire es necesario á su vida como á la de todos los séres. Algunas veces el oxígeno contenido en el fondo, permite á los bacterios desarrollarse de arriba abajo, ó mejor dicho, en todas partes; pero, muy á menudo forman en la superficie una capa tan densa que intercepta el paso del oxígeno y mantiene en este caso el líquido subyacente tan claro como el agua. La observacion de este curioso hecho y muchos otros parecidos sugerió á Tyndall la idea de estudiar la influencia de la extraccion más ó menos perfecta del aire sobre el desarrollo de la vida en las infusiones.

Y al efecto practicó desde luego algunos experimentos con una bomba ordinaria.

Los cuellos de una série de bolas de pipeta cargadas con una infusion de nabo fueron adelgazadas por el centro formando un tubo muy estrecho. Habiéndose puesto en conexion el extremo del cuello abierto con la bomba de aire, las bolas se vaciaron. En ciertas ocasiones, para hacer más fácil la extraccion del aire, se introdujo hidrógeno en las dos bolas y se quitó inmediatamente por medio de la bomba de aire. Antes que se las separase de las bombas, se sumergieron las bolas en agua tibia, luego se hirvieron y por último, despues de un minuto de ebullicion, se cerraron herméticamente. Luego se sumergieron en agua fria gradualmente elevada á 200° Fahr., y se hirvieron durante diez minutos; en fin, se dejaron reposar en una cámara á la temperatura de 90° Fahr.

Cuatro bolas fueron tratadas del modo referido en un experimento verificado el 7 de marzo; de ellas, dos quedaron y todavia están tan claras como el cristal; las otras dos se enturbiaron pero no se cubrieron de espuma. Debemos hacer presente que dicho enturbiamiento era apenas perceptible; sin embargo, no podia escapar á un observador acostumbrado á percibirlo.

Bien es verdad que los medios empleados no podian necesariamente producir más que un vacio imperfecto, y en vista de ello resolvió Tyndall emplear la bomba Sprengel. Antes de unir las bolas á ella, les dió la forma que representa la fig. 19. Así que el cuello de las mismas estuvo tapado con uata, fué doblado en ángulo recto por encima del tapon, y una porcion del brazo más pequeño fué alargada y adelgazada como indica el tubo capilar O. El extremo A fué puesto en conexion con la bomba de Sprengel, y así que el vacío estuvo hecho durante el tiempo requerido, el cuello de la bola se cerró en dicho punto O.

El dia 14 de marzo, tres bolas cargadas con una infusion de nabo, de las cuales se habia extraido el aire lo mejor que se pudo por medio de una bomba de aire, fueron puestas en conexion con la bomba Sprengel que continuó verificando el vacío durante tres horas sin interrupcion. El aire contenido en la parte inferior del líquido se escapaba libremente, y poco á poco iba ascendiendo en forma de bolillas á la superficie, en cuyo punto estallaban, siendo absorvido por la accion de la bomba y continuando lo mismo hasta tanto que el vacío tuvo definitivamente lugar. Ya una vez cerrados herméticamente los cuellos de las bolas, se expusieron á la ebullicion durante diez minutos.

Se recordará que cuando las infusiones y el aire que las cubria poseian la proporcion normal de oxígeno, 180 minutos de ebulli-

cion fueron suficientes para estirilizarlas, y que una de las que formaron parte de aquel experimento fué precisamente tambien de nabo. Aquí, así que el aire fué separado del líquido la exposicion durante la décima octava parte de tiempo precitado fué suficiente para producir la estirilidad perfecta. La masa de dicha infusion se halla todavia hoy tan clara en su superficie tambien desprovista de espuma como el primer día.

El 15 de marzo siete bolas cargadas con una infusion de nabo fueron tratadas del modo que acabamos de expresar, privadas primero de su aire por tres horas de la accion de la bomba Sprengel, y luego hervidas durante diez minutos: De las siete, seis quedaron perfectamente claras.

El 16 del mismo mes, otras tantas bolas dieron el propio resultado. Fueron cargadas siete con una infusion de la propia substancia (nabo), se extrajo el aire por medio de la bomba ordinaria, y luego sometiéronse durante cinco horas á la accion de una de Sprengel; herméticamente cerradas y hervidas por el propio procedimiento anterior, seis de las siete quedaron tan claras como el agua destilada.

El 20 de marzo otras siete fueron cargadas con una infusion de cohombro y sometidas como las primeras á la accion inmediata de una bomba Sprengel durante siete horas: tratadas consecutivamente como las anteriores dieron un resultado completamente satisfactorio: todas quedaron estériles.

El 27 del mismo mes otras tres bolas fueron cargadas con una infusion de la propia substancia anterior (cohombro) y sometidas tambien á la accion directa de la bomba Sprengel durante cinco horas. Una de ellas fué seguidamente hervida durante cinco minutos, otra durante un minuto y la última se dejó en su estado natural: ésta se enturbió rápidamente, pero las dos restantes quedaron libres de vida, claras como el cristal.

Semejante resultado merecia ser confirmado, y por consiguiente, el dia 29 seis bolas de la propia infusion (cohombro) fueron privadas de aire, verificando el vacío durante cinco horas, cerradas inmediatamente y hervidas durante un minuto, espacio mínimo de tiempo del experimento anterior que se trataba de comprobar, y con efecto solo una se enturbió, las cinco restantes quedaron perfectamente claras.

El 30 del propio mes se verificó el vacío durante cinco horas en seis bolas que contenian una infusion de nabo. El resultado fué como el anterior, cinco quedaron claras y solo una se enturbió.

El 6 de Abril, cinco bolas con infusion de buey fueron sometidas durante tres horas á la accion de la bomba Sprengel y hervidas acto seguido durante un minuto. El resultado fué completo, todas quedaron brillantes.

El dia siguiente, otras cinco con infusion de carnero fueron tratadas de la misma manera que las anteriores, estando sometidas á un vacío de tres horas y á una ebullicion de un minuto, dando el mismo resultado que las anteriormente citadas. Este experimento fué repetido y confirmado el 20 del mismo mes de Abril.

Anteriormente ó sea el dia 14 del propio mes, tres bolas con infusion de cerdo fueron sometidas al vacío durante cuatro horas y hervidas durante un minuto tambien. El resultado no pudo ser más satisfactorio, puesto que todas se conservaron límpidas.

El 17 siguiente, cuatro bolas con orines convenientemente neutralizados fueron tambien sometidas al vacío durante cinco horas y hervidas durante un minuto. Tres quedaron brillantes y una se enturbió.

No termina aquí la lista de los hechos observados. Muchas otras infusiones quedaron estériles empleando el mismo procedimiento durante los días siguientes al ultimamente mencionado; pero temeríamos cansar á nuestros lectores mencionándolos todos y lo juzgamos además inútil, bajo el punto de vista de la comprobación, puesto que bastará les digamos que los resultados fueron idénticamente los mismos.

No cabe duda, pues, que en la mayor parte de los casos, aunque no en todos, 200 minutos de ebullición fueron insuficientes para esterilizar una infusión á la cual préviamente no se hubiese extraido el aire.

Pero ahora cabe además una pregunta: ¿qué hubiera sucedido si las bolas en las cuales se

verificó el vacío no hubiesen sido hervidas? Creemos que practicado por completo dicho vacío, hubieran quedado igualmente estériles. Sin embargo, en los ensayos verificados por Tyndall, algunas infusiones no hervidas se enturbiaron, mientras que otras permanecieron completamente transparentes. Recordaremos que tres bolas con infusión de carnero cuyo vacío se verificó durante cuatro horas, dos con infusión de buey durante tres y otras cuatro con la de cerdo cuyo vacío también duró cuatro horas, dejadas reposar todas sin ser hervidas, quedaron tan transparentes y tan exentas de vida como las demás correspondientes á sus respectivos experimentos que fueron hervidas. Pueden citarse además numerosos casos de esterilización sin que haya mediado dicha ebullición. Y por otra parte tres bolas con orines neutralizados cuyo vacío duró cinco horas, dejadas reposar sin que mediara ebullición se enturbiaron rápidamente. Otro caso análogo con infusión de cohombro hemos citado también. Es difícil, sino imposible, extraer completamente el aire de una infusión y del espacio que queda libre en su tubo ó bola; y cuando se halla en contacto con un líquido fuertemente nutritivo, mucho más difícil todavía, puesto que el oxígeno aun en cántidad infinitisimal, puede en dichas substancias favorables producir un desarrollo sensible de vida que se multiplica rápidamente. Además, debemos añadir, que al reconocer luego Tyndall el estado de dichas bolas enturbiadas, siempre halló en ellas algo defectuoso.

Los precedentes experimentos son suficientes, á pesar de todo, para demostrar la dependencia de los organismos con relación al oxígeno (1) y creemos que el método últimamente descrito, puede prestar útiles servicios y ser susceptible de numerosas aplicaciones.

§ 24

Mortalidad de los gérmenes á causa de la falta de oxígeno por la ebullicion de las infusiones.

Tyndall asegura que mucho tiempo antes de los experimentos con la bomba Sprengel, ya se había dado cuenta de la influencia del oxígeno atmosférico en la vida de aquellos organismos. Pero se reveló de una manera más clara en los experimentos verificados con las infusiones privadas de aire por la ebullición, habiendo sido los tubos que las contenían herméticamente cerrados mientras que el líquido hervía todavía.

En la época en que la atmósfera del laboratorio estaba tan cargada de gérmenes que ninguna de las infusiones conservadas en las cámaras cerradas pudo escaparse de la infección, fué fácil conservarlas claras durante un tiempo indefinido en vasos privados de aire por la ebullición y convenientemente cerrados. Citaremos algunos de los numerosos ejemplos observados entonces, en apoyo de nuestro aserto.

El 2 de octubre, catorce frascos de cuello encorvado, fueron cargados con una infusión neutralizada de heno. Después fueron hervidos durante tres minutos en un baño de aceite y herméticamente cerrados durante la ebullición. De ellos, trece quedaron perfectamente esterelizados, conservando durante meses enteros su brillante transparencia.

El 18 de noviembre se llenaron otros seis frascos con infusión de nabo, cinco con cohombro, otros cinco con remolacha y cuatro con zanahoria. Los seis primeros quedaron completamente estériles, poseyendo un martillo de agua perfectamente límpido. Los

(1) En busca de este gas llegan á veces á elevarse con la evaporación del líquido hasta la altura de una pulgada sobre la superficie del mismo, formando en el interior del tubo una especie de espuma que parece conducida allí por atracción capilar.

cinco de remolacha también quedaron estériles con martillo de agua. Dos de zanahoria se enturbiaron quedando los restantes claros. Y la misma proporción guardaron los de cohombro, puesto que tres se enturbiaron y los otros tres restantes se conservaron perfectamente claros. Ni en el caso de la infusión de nabo, ni en los de cohombro, pudo obtenerse en los frascos enturbiados el son del martillo de agua. Los enturbiados, por otra parte, mostraron que su vacío era defectuoso, así que se los abrió rompiendo su pico bajo el agua. En los tubos claros por el contrario se halló perfecto.

El 20 de noviembre, se cargaron nuevamente diecisiete frascos con infusiones de cohombro, de nabo y de zanahoria. Fueron hervidos durante tres minutos en un baño de aceite y cuidadosamente cerrados durante la ebullición. El resultado fué el siguiente: seis con nabo quedaron perfectamente claros conservando durante meses enteros el sonido del martillo de agua muy claro; de los cinco con zanahoria cuatro quedaron perfectamente claros y uno turbio poseyendo solo los primeros el sonido del martillo de agua; el turbio por el contrario, al agitarlo vióse que no poseía dicho sonido y cuando se le practicó la rotura de su extremo bajo el agua, el vacío apareció defectuoso. De los seis frascos con cohombro, dos se enturbiaron y los cuatro restantes quedaron brillantes. Al romper sus extremos cerrados bajo el agua, una tercera parte de uno de los frascos turbios y una cuarta parte del otro, dejaron de llenarse de líquido.

El 9 de diciembre dieciocho frascos fueron cargados con una infusión de cohombro. Hervidos durante el mismo espacio de tiempo, esto es, tres minutos, y cerrados con el mayor cuidado posible durante la ebullición cuando el vapor se escapaba todavía, el sonido del martillo de agua fué en todos los frascos particularmente claro y mate. Expuestos luego durante semanas enteras á una temperatura de 95° Fahr.; diecisiete permanecieron perfectamente límpidos, mientras que la misma infusión en contacto con el aire filtrado, encima y debajo de la misma, rebosaba de vida después de haber sido hervida durante sesenta veces mayor espacio de tiempo del que había esterelizado las demás.

Un día después de su preparación uno de los frascos sometidos á un vacío cuidadosamente efectuado, fué hallado turbio y cubierto de espuma, pero al examinar su extremo cerrado se observó que estaba rajado: el aire del laboratorio se había introducido en él y había dado nacimiento á los organismos que le enturbiaban. Fracasos de esa naturaleza, tienen una fuerza demostrativa mayor que los más grandes resultados satisfactorios; demuestran evidentemente que el orígen del contagio es exterior.

No nos cansaremos de repetir que hechos de esta naturaleza ó parecidos se presentan con alguna frecuencia á pesar del mayor cuidado que se ponga para impedirlos. La finura misma de las puntas cerradas de los frascos permite con gran facilidad una ruptura ó rajilla no tomando las mayores precauciones para impedirlo y á veces á pesar de ellas.

Suspendidos los frascos ó botellitas por lo común de un hilo después de su preparación, ó depositados sobre un soporte de madera, se observa frecuentemente poco después ó al cabo de algún tiempo, que algunos se enturbian por completo. A primera vista no se adivina la causa, pero examinados detenidamente, se nota una raja en la punta ó una pequeñísima rotura, lo suficiente para que penetrando el aire exterior produzca el enturbiamiento.

Con objeto de demostrar como la menor falta de cuidado puede ser causa de la infección permitiendo la entrada del aire en vasos al parecer herméticamente cerrados, se efectuó el día 6 del propio mes de diciembre el experimento siguiente: se cargaron cuatro botellitas de cuello encorvado con una infusión de cohombro y fueron hervidas durante el tiempo empleado comunmente y cerradas no durante la salida del vapor, sino un momento después que cesó la ebullición. Tres días después, de las cuatro botellitas, tres estaban turbias aunque débilmente, pero distinguiéndose muy bien. La causa es fácil de comprender. Por más que en todo el experimento se puso gran cuidado, se descuidó exprofeso el cierre y resultó que, produciéndose

al finalizar la ebullición una condensación de vapor encima de la infusión, por débil que fuese, fué suficiente para permitir la contaminación, á pesar de haberse cerrado la botellita herméticamente poco después de cesar aquella, como se ha indicado.

El orígen del contagio ha sido asimismo claramente indicado por los experimentos siguientes verificados con el propio objeto: un gran número de frasquillos encerrando infusiones de chocha, perdiz, liebre, conejo, carnero, rodaballo, salmón, merluza, mujol, nabo y heno, procedentes de los experimentos verificados en 1875, se guardaban en el laboratorio de Tyndall. Después de un año de exposición á la temperatura cálida de la sala, ninguno de estos frascos presentaba la más ligera señal de vida, ni de enturbiamiento. El día 7 de diciembre en los extremos cerrados de cuarenta de entre los citados frascos, se practicó una raja ó pequeña rotura y cinco días más tarde, veintisiete, esto es, en mayor proporción que en el pasado año, estaban ya turbios, llenos de organismos.

Es inútil insistir en demostrar la evidente conclusión que de semejantes experimentos resulta. Es indudable que el contagio procede del exterior de las infusiones, que es *algo* en suspensión que existe en el aire y que en diferentes épocas los intérvalos son diferentes entre los grupos del contagio flotante en él.

§ 25

Revista crítica de los dos párrafos precedentes.

Siguiendo con atención el curso de los anteriores experimentos, se observa que Tyndall puso todo su empeño en no abrigar incertidumbre ni duda de ninguna especie acerca el resultado que en los mismos obtenía. Así se explica que ensayara con tanta minuciosidad unas mismas infusiones, é idéntico número de bolas ó frascos, á fin de determinar de una manera clara y positiva, á la par que la bondad de sus procedimientos, la evidente certeza de los resultados y lo verdadero de sus afirmaciones ante la ciencia contemporánea. Así, por ejemplo, después de comprobar los resultados que en los precedentes párrafos hemos mencionado, se impuso el deber de saber con certeza, sin que la incertidumbre pudiera luego después mortificarle en lo más mínimo, si la brillantez permanente de una infusión expuesta á un débil calor, ó privada de aire, sea por la ebullición, sea por medio de la bomba Sprengel, se debía realmente á la destrucción de los gérmenes contenidos en la infusión.

Hasta en una atmósfera extraordinariamente inficiosa, de tres á cinco minutos de ebullición en un baño de aceite, bastan para esterilizar los citados frascos; mientras que es exactamente cierto que un período de calefacción cinco veces más largo ó duradero será impotente para producir dicho efecto, estando la infusión en contacto con el aire ó conteniéndolo. Análogo resultado ofrecen y pueden aplicarse los mismos razonamientos á los experimentos verificados con auxilio de la bomba Sprengel.

Ya en vista de ello, teniendo en consideración la resistencia de los gérmenes, una pregunta no exenta de lógica, se ofreció á la inmediata consideración de Tyndall y fué la siguiente: ¿la vida de los gérmenes sería simplemente suspendida en lugar de ser destruida?

Se concibe fácilmente que los gérmenes dotados de un poder vital cercano á manifestarse en condiciones favorables, dejaran de hacerlo en condiciones desfavorables y que por lo tanto pudieran existir todavía en los frascos herméticamente cerrados, en los cuales la completa ausencia del oxígeno, hace imposible todo desarrollo interior.

Que algo más que una simple suspensión de desarrollo, tiene lugar en las infusiones,

está probado por un gran número de experimentos. Estos, por otra parte, demuestran también que después que los frascos herméticamente cerrados han quedado transparentes, no durante algunos días, sino durante semanas y meses enteros y aun á veces hasta durante más de un año, no desarrollan tampoco invariablemente los organismos así que sus puntas son rajadas ó quebradas. Muchos de ellos quedan estériles aunque luego estén provistos abundantemente de oxígeno.

Sin embargo, se practicaron experimentos especiales á fin de aclarar ese punto, á fin de poder contestar aquella pregunta con conocimiento de causa. La primera que se efectuó, fué la siguiente: los frascos herméticamente cerrados fueron abiertos en un almacen de la planta baja del laboratorio y aunque sometidos á la acción del oxígeno, no dieron en absoluto señales de vida. Se rompieron igualmente las puntas de un número considerable de frascos en la llama de una lámpara de espíritu de vino. Ya es sabido que la pólvora puede lanzarse á través de semejante llama sin que se inflame; en los casos raros en que el aire que penetraba en las infusiones pasaba por la citada llama, quedaban luego llenas de vida, la materia germinativa era aspirada tan rápidamente que podía como la pólvora atravesar la llama sin destruirse.

Se tomaron igualmente disposiciones especiales para romper la punta de los frascos en un recipiente lleno de aire filtrado. Pero no es muy fácil limpiar con toda perfección los instrumentos utilizados en semejantes experimentos, por más que sea factible teniendo práctica ó costumbre de hacerlo perfectamente en casos tales. El resultado fué que los frascos abiertos en el aire filtrado se conservaron luego por lo general libres. Hé aquí un ejemplo: el 3 de enero se cargaron diez frascos con infusiones de cohombro, nabo, alcachofa y melón. Fueron hervidos durante el tiempo ordinario, cerrados durante la ebullición y expuestos seguidamente á una temperatura cálida. Los extremos cerrados fueron luego rotos, estando metidos dentro de un recipiente que contenía aire filtrado. Los dos frascos con alcachofa quedaron luego indefinidamente estériles. De los dos con melón, uno se conservó claro, el otro desarrolló organismos; y lo propio pasó con los dos que contenían cohombro, uno se enturbió y el otro quedó límpido para siempre. De los cuatro frascos con nabo, dos quedaron turbios y los otros dos esterilizados. Por consiguiente de los diez frascos sometidos todos á la acción del aire ordinario, se conservaron seis indefinidamente estériles. Algún tiempo después, ya más práctico Tyndall en esta clase de experimentos, llegó á obtener la esterilización en casi todos cuantos frascos sometía á dicha prueba. Por lo tanto, la conclusión que de ello se desprende, no puede ser más evidente: no es solamente el calor el que destruye los gérmenes, pues, cincuenta veces la cantidad de calor empleada no produciría el mismo resultado existiendo el oxígeno, por lo tanto el calórico debe ser ayudado con la extracción de dicho gas.

§ 26

Mortalidad de los gérmenes conteniendo un exceso de oxígeno.

Las precedentes observaciones recuerdan, naturalmente, una referencia de los importantes experimentos practicados por Pablo Bert (1), acerca la influencia tóxica del oxígeno comprimido. Según la comunicación preliminar remitida á Tyndall, al principio de dichos experimentos se podía deducir que los gérmenes de la putrefacción habían sido destruidos por una presión mecánica y hace más de un año y medio que situadas unas infusiones de nabo en fuertes recipientes de

(1) Memorias: vol. LXXX p. 1579.

hierro y sometidas á una presión de treintitres atmósferas, al retirarlas de sus vasos respectivos, se vió que todas estaban llenas de organismos, que la vida se hallaba esparcida en todas por completo.

El día 6 de octubre, tuvo lugar otra serie de experimentos parecidos con infusiones de heno y de nabo, sometiéndolas durante varios días á una presión de veintisiete atmósferas. Así que se apartaron de sus tubos y se examinaron, se hallaron dichas infusiones pobladas de bacterios.

Tyndall, entonces, ensayó el oxígeno puro y obtuvo con él en sus infusiones el mismo resultado que Pablo Bert había obtenido con la carne, con el pan seco, con el almidón hervido y las fresas, cerezas, vino y orines. Empleáronse presiones de oxígeno variables de diez á veintisiete atmósferas. Siempre, cualquiera que fuese el tiempo durante el cual se mantuviese la presión, por favorables que fuesen las condiciones de temperatura ambiente para la putrefacción, las infusiones (buey, carnero y nabo), así que se sacaron del recipiente encontráronse *tan claras como el cristal* y enteramente exentas de vida. Además fué menester una exposición muy prolongada al aire ordinario para infeccionar las infusiones que habían sido puestas en contacto con el oxígeno puro.

Otros vasos que contenían aire ordinario fueron igualmente sometidos á la misma presión y al examinar sus infusiones halláronse todas en putrefacción, llenas por completo de vida.

Por lo tanto, así que el oxígeno está totalmente extraido de las infusiones orgánicas, la vida á que nos referimos aquí, cesa. Cuando por lo contrario contienen dicho gas con exceso, hace el efecto de mortal veneno para los organismos que contengan las propias infusiones, cuya vida alimentan en cantidad moderada. Así como para la temperatura, hay para el oxígeno una zona media favorable á la vida, zona más allá de la cual en ambos sentidos, se hace imposible la vida.

Aquí debiéramos terminar la memoria de Tyndall, sin embargo añadiremos todavía algunos párrafos que no por ser incompletos dejan de ser instructivos.

§ 27

Experimentos con los orines neutralizados.

Tyndall comunicó ya á la sociedad real los resultados obtenidos en los experimentos que verificó con ese líquido (1), experimentos en los cuales la potasa que se empleó para la neutralización fué sometida á una temperatura de 220° F. El álcali estaba contenido en tubos finamente adelgazados por sus extremos, los cuales se introdujeron en los frascos que contenían orines ácidos y rompiéronse dentro, así que dicho líquido fué esterilizado por la calefacción. Los casos en que apareció la vida en los orines así neutralizados fueron rarísimos. La proporción de los frascos esterilizados era muchísimo mayor que la de los no esterilizados.

En los experimentos á que nos referimos, ni la potasa, ni los orines, fueron calentados á más de 212°. Deseando averiguar Tyndall como obrarían los gérmenes del laboratorio sobre los orines neutralizados, llenó el 16 de febrero dieciseis bolas de pipetas con dicho líquido; se neutralizaron con potasa caustica, la cual durante la ebullición produjo una precipitación abundante. Se filtraron seguidamente para separar el precipitado, y se obtuvo una solución muy transparente.

Las bolas se habían limpiado perfectamente y llenado de aire filtrado á la presión de un tercio de atmósfera, después se cerraron herméticamente, exponiéndose luego al calor de un pico de Bunsen. Se cargaron de orines rompiendo sus extremos en el interior del

(1) Procedimientos, vol. XXV, p. 457.

propio líquido. Se cerraron de nuevo y se sometieron á la ebullición durante diez minutos.

Ninguna de dichas bolas quedó estéril. Dos días después de su preparación los organismos hormigueaban en todas.

Al propio tiempo se cargaron otras tres bolas con la misma infusión, solamente que en vez de ponerlas en contacto con el aire filtrado, se desalojó éste con cinco minutos de ebullición en un baño de aceite y mientras se iba escapando el vapor, esto es, aún saliendo vapor, se cerraron los frascos.

Ni una sola de esas bolas cedió á la infección. Se hallan todavía tan brillantes y tan exentas de vida como después de haber pasado á través del filtro el día del experimento.

Semejante diferencia en los resultados merece tenerse en cuenta. En uno de los experimentos cinco minutos de acción produjeron una esterilización completa, mientras que en otro, fueron impotentes diez minutos para producir el propio efecto. Aún más, multiplicado este último período de tiempo veinte veces, resultó ineficaz también. En uno de dichos dos experimentos la ebullición privó al líquido de su aire, y en el otro por el contrario, este gas fué conservado á la vez encima y en el interior del líquido. Los hechos observados concuerdan por otra parte en un todo con las anteriores operaciones verificadas.

El 21 de febrero se cargaron seis bolas con orines frescos cuidadosamente neutralizados y hervidos durante cinco minutos en un baño de aceite. De los seis frascos, cuatro quedaron completamente claros y brillantes, uno se enturbió ligeramente y el otro por completo.

Los orines á que nos referimos fueron neutralizados en el mismo laboratorio de Tyndall pero se había insistido tanto acerca las circunstancias de la neutralización, que dicho microbiólogo deseó comprobar sus resultados, y en su consecuencia suplicó á su amigo Debús tuviera la bondad de remitirle de Greenwich cierta cantidad de orines cuidadosamente neutralizados por él. El 18 de marzo se cargaron siete frascos de cuello curvado con la neutralización remitida por Debús. Se hirvieron durante cinco minutos en un baño de aceite, cerrándose durante la ebullición. De ellos, tres se enturbiaron, pero los cuatro restantes quedaron perfectamente claros.

Anteriormente, ó sea el 5 del propio mes, el doctor Williamson había remitido también orines neutralizados, recogidos en los retretes de la Universidad. Su color era obscuro, el olor infecto, y la precipitación por la ebullición fué muy considerable. Se cargaron catorce frascos con ese líquido el 6 del citado mes. De ellos cedieron siete, pero los otros siete ó sea la mitad restante, se conservaron límpidos.

En uno de los días siguientes, ó sea el 10 de marzo, el doctor Frankland remitió también una cantidad de dicho líquido neutralizado por él mismo. Siguiendo el mismo procedimiento usado en los demás se introdujo en cuatro frascos que fueron hervidos durante cinco minutos en un baño de aceite y cerrados durante la ebullición. Ninguno de esos tubos mostró la más ligera traza de vida. El líquido que contenían está todavía tan brillante como el día de su introducción.

En todos los casos que hemos mencionado, el líquido después de la ebullición era expuesto durante muchos días á una temperatura de 50° centígrados.

La divergencia de los resultados obtenidos y el constante esfuerzo empleado por Tyndall para su comprobación, le ocuparon durante mucho tiempo para que pudieran ser incluidos en la memoria á que antes de ahora nos hemos referido. Pero en cambio llevaron á su ánimo la convicción de que con un poco de práctica debían bastar cinco minutos en todos casos para esterilizar los orines.

A pesar de todo, creemos que los anteriores experimentos bastan para deducir la realidad de la causa que perseguimos, y que por lo tanto, permiten poder concluir que la vida observada en los orines en ciertos casos, no puede ser debida á la generación expontánea.

§ 28

Frascos herméticamente cerrados expuestos al sol, en los Alpes.

Una observación del doctor Bastián, en la cual (1) concede á los rayos actínicos del sol el poder de generación expontánea, obligó á Tyndall á trasladarse á Suiza con varios frascos herméticamente cerrados y cargados con infusiones distintas. Aunque metidos entre aserrín y cuidadosamente embalados en Londres, al llegar á Bel-Alp observó Tyndall que habían sufrido algún quebranto, pero aun pudo salvar cuarenticinco que, completamente intactos, ofrecían la siguiente distribución de substancias:

Buey.	12 frascos.
Caballa (escombro).	12 »
Nabo.	12 »
Pollo.	9 »

Durante los primeros diez espléndidos y magníficos días de verano con que el cielo quiso favorecer la estancia de Tyndall en Bel-Alp á mediados del mes de julio, dichos frascos fueron expuestos á los rayos solares sobre el techo de la fonda en que paraba aquél, es decir, á 7,000 pies sobre el nivel del mar: en esta época ni la más leve nube empañaba la nitidez de aquel magnífico azul obscuro que presentaba la atmósfera constantemente: no hay duda que el poder de los rayos actínicos en Londres hubiera sido muy inferior ó mucho más escaso que el de que se gozaba en Bel-Alp. La temperatura durante una parte del día era de 120° F.

Por la tarde, así que la temperatura descendía á 70°, se retiraban los frascos y se suspendían en la cocina de la fonda cuya temperatura variaba durante la noche de 70 á 80° F. Téngase en cuenta que los cambios de temperatura son considerados como favorables á la generación espontánea.

Así que dichos bellísimos días de sol desaparecieron, los frascos se conservaron durante tres semanas suspendidos en la citada cocina, con exposiciones intermitentes al sol que alguno que otro día seguía favoreciendo el experimento; la temperatura media de la cocina era por lo demás de 90° F. poco más ó menos durante las tres semanas.

El resultado de las observaciones ó del experimento, fué que, *ni uno solo de los cuarenticinco frascos presentó el más leve indicio de generación espontánea.* Desde el primer día hasta el último, estuvieron tan claros y límpidos, cual si fuesen de agua destilada.

En vista de ello, se rompieron los extremos cerrados de dichos frascos en diversos puntos: algunos en el *sparrenhorn,* otros en un ventisquero, otros en la *Massa-gorge,* otros todavía entre el pelo de la cabeza, y en fin, los restantes se esparcieron por las cámaras de la fonda. Muchos de entre ellos fueron además infectados con aguas de distinta naturaleza, agua manantial, agua de estanque, agua de nieve de un ventisquero. No entra en nuestro designio dar una reseña detallada de todos aquellos experimentos, así que solo diremos que no fué la falta de poder nutritivo por parte de las infusiones lo que causó la ausencia de los organismos en la primera prueba ó experimento, puesto que así que la solución fué puesta en contacto con una materia infecciosa cualquiera, *inmediatamente apareció la vida,* haciéndose apta para multiplicarla extraordinariamente.

(1) *Naturaleza*, vol. III, p. 247.

§ 29

Observaciones acerca los cierres herméticos.

No creemos que estén de más aquí algunas observaciones acerca el cierre hermético de los frascos. Dicho cierre verificado durante la ebullición es una de las operaciones que para estar bien hecha se necesita práctica. El cuello de los frascos debe ser de un diámetro tal que la presión del vapor en el interior sea sensiblemente mayor que la del aire ambiente. Esta condición sería fácil de llenar si la salida de dicho vapor fuese absolutamente uniforme en lugar de ser brusca é irregular. Pero es así y si el conducto á través del cual pasa es ancho, es casi imposible evitar la penetración del aire. A veces la presión interior es superior á la del exterior y el vapor se escapa libremente; pero en un momento dado, á causa de la adherencia del líquido en las paredes del frasco y de la condensación, la presión puede descender debajo de la de la atmósfera, y entonces hay regurgitación.

El triunfo alternado de las presiones interior y exterior se halla por otra parte puesta en evidencia por el movimiento del agua condensada en el cuello del frasco. Este líquido obra como un índice que va y viene según varía la presión. Es claro que la contaminación puede ser introducida de esta manera, y sin duda lo ha sido en todos aquellos frascos considerados al parecer libres de aire.

Hasta poniendo un gran cuidado y poseyendo una gran práctica en las manipulaciones, no se puede *à priori* asegurar el resultado, puesto que el más leve descuido puede hacerle variar. Se puede admitir como mínimum, y no es mucho, un 10 por 100 en la proporción de los resultados contrarios á causa del cierre mal verificado en los frascos. La abertura reciente de doscientos tubos empleados en los primeros experimentos bajo el agua y bajo la solución de potasa cáustica, suministra la base de semejante conclusión.

Hasta experimentando en una atmósfera comparativamente pura, no se puede augurar un buen resultado siempre; cuando el éxito corona nuestros esfuerzos, es porque han sido apoyados por un exquisito cuidado; y una paciencia sin límites ayudada de una gran práctica, influye siempre poderosamente en la victoria.

En Kew, por ejemplo, el 8 de enero fueron cargados trece frascos de cuello encorvado, con infusiones de cohombro, melón, buey y sollo. De ellas *doce* quedaron *perfectamente límpidas* pero *una* (de cohombro) *se enturbió por completo* rehusando producir el sonido del martillo de agua. ¿A qué fué debido esto? indudablemente á la falta de cuidado ó de práctica. No hay duda, pues, que con una gran práctica el resultado puede ser casi siempre invariable.

§ 30

Experimentos con infusiones de nabo y queso mezcladas.

Deseando no dejar en la sombra nada absolutamente de cuanto pueda referirse á los serios estudios que tuvieron lugar bajo la dirección del infatigable profesor Tyndall ó fueron objeto de los mismos directamente por él, daremos á conocer ciertos experimentos que fueron causa de extraordinarios afanes y de un trabajo ímprobo; y no debemos dejar de

citarlos por más que no hayan sido comprobados y repetidos como hubiera sido de desear, pero con ello añadiremos algo más al importante conocimiento de los gérmenes y de los notables experimentos expuestos. Nos proponemos, pues, resumir aquí lo más brevemente posible una serie de ensayos verificados con una infusión de queso-nabo (mezcla de ambas substancias), infusión que ha sido con frecuencia citada como favorable á la generación expontánea y cuyos resultados vienen en apoyo de nuestra opinión acerca dicha teoría.

Los experimentos de qne se trata, fueron hechos en parte en cámaras herméticamente cerradas y en parte con frascos de cuello curvado. La densidad de las infusiones varió de 1,008 á 1,012. Los quesos empleados fueron: holanda, cheshire, cheddar, gloucester, americano, roquefort y parmesón; la cantidad varió de medio grano á dos granos por 287 decígramos de infusión.

Una vez triturado perfectamente el queso en el mortero á fin de reducir sus partículas lo más posible, fué incorporado y mezclado á la infusión quedando íntimamente unido á ella; hecho lo cual, se procedió á la ebullición durante algunos minutos, filtrándose luego después. El líquido así filtrado se introdujo en las cámaras herméticamente cerradas en las cuales volvióse á hervir durante cinco minutos.

Diez y seis cámaras parecidas se emplearon conteniendo una de ellas doce tubos de ensayo y las demás solamente tres. Había, pues, un total de cincuenta y siete tubos.

El resultado del ensayo fué que de los citados tubos *se enturbiaron veintisiete* al cabo de algunos días, mientras que *los treinta restantes se conservaron durante meses enteros sin alteración sensible.*

Un número considerable de tubos de cuello curvado se cargaron al propio tiempo con la misma infusión y hervidos durante cinco minutos en un baño de aceite, *la inmensa mayoría permaneció completamente intacta.*

Vemos pues con esto, que los hechos que los partidarios de la heterogénesis han querido poner por base de su teoría, se evaporan examinándolos detenidamente, pues es evidente de toda evidencia para cualquier espíritu científico, que no se pueden contar como casos de generación espontánea, las apariciones excepcionales de esos animalillos en los citados ensayos.

Son muy conocidos los experimentos de Spallancini relativos á la acción del calor sobre las simientes: con frecuencia han sido citados en apoyo de que basta una temperatura de 212° F. para destruir toda materia viviente. Tyndall ha repetido gran número de veces semejantes experimentos y nos haremos eco de alguno de ellos ahora precisamente, porque se relacionan directamente con los resultados descritos: guisantes, habichuelas y simientes de berro y de mostaza se encerraron en saquillos y fueron hervidas con períodos de duración variables de treinta segundos á cinco minutos. Luego se metieron cuidadosamente en unas macetas llenas de una tierra perfectamente preparada y situadas en una estufa mantenida á la temperatura de 70° F. Una porción de cada una de dichas simientes no hervida, se plantó al propio tiempo en otra maceta colocada al lado de la anterior, conteniendo igual cantidad y clase de tierra. Las primeras germinaron vigorosamente. Treinta segundos de ebullición bastaron por el contrario para privar á los guisantes y habichuelas de su poder germinativo.

Solamente una parte de las simientes de berro hervidas durante el mismo período de tiempo llegó á prosperar, la mayor parte quedó destruída, ingerminable. Al propio tiempo una gran proporción de las de mostaza prosperó. La duración de la ebullición fué doblada, triplicada y cuadruplicada, sin que la vida desapareciese por completo. Los granos de mostaza fértiles iban disminuyendo en número á medida que aumentaba el periodo de ebullición, pero, hasta después de una duración de dos minutos, hubo algunos de ellos que germinaron todavía.

No debemos pasar en silencio un hecho que nos parece de grande importancia en la cuestión que nos ocupa. Cuando en vez de usar sacos de calicot, colocó Tyndall directamente las simientes en el agua á fin de asegurarse que no tenían más temperatura que la de ésta, y tambin con el fin de que pudiesen produ-

cirse fenómenos de difusión entre dichas simientes y el líquido ambiente, *ni una sola de ellas resistió á veinte segundos de ebullición.* En los primeros experimentos, el saco que las contenía reunidas, no solamente había ejercido una influencia protectora sobre ellas, sino que además había obligado á la capa externa de los granos á servir de escudo á la masa interior. De donde retrotrayéndonos al experimento con el queso, deduciremos la consecuencia que con mayor motivo garantizará las simientes contenidas en su masa; puesto que como es sabido, al contrario de los frutos y de la harina, es completamente impermeable; por lo tanto, separará el agua cuya humedad necesitan los gérmenes y podrá conservar la vida de éstos indefinidamente.

NOTA A

Acerca las propiedades de los orines alcalinizados. (1)

La comunicación que acerca la influencia de la potasa y de una temperatura elevada sobre el origen y el desarrollo de los micrófitos presentó Tyndall, á instancias del doctor Roberts, á la sociedad Real de Londres, nos obliga á dar á conocer los experimentos que subsiguieron á ella con motivo de un hecho que al llamar la atención de dicho doctor Roberts, hizo que también se volviese á ocupar del mismo el propio Tyndall, á fin de ver si sus resultados confirmaban los de aquél.

Quiso en algunos de los citados experimentos aplicar el mismo método descrito por el expresado doctor y aplicarlo cuidadosamente, excepción hecha de un caso particular en el cual varió la temperatura.

Al efecto se cargaron unos tubillos cuyos extremos habían sido adelgazados, con una cantidad definida de potasa cáustica, y se sometieron durante un cuarto de hora á la temperatura de 220° Fahr. Se introdujeron luego en frascos que contenían un volumen conocido de orines. Después se hirvieron durante cinco minutos, cerrándose los cuellos durante la ebullición. Seguidamente se colocaron en una sala caliente durante un tiempo bastante largo para asegurarse que el líquido había sido bien esterilizado por medio de dicha ebullición, y por último, se sacudieron violentamente hasta que se quebraron los extremos adelgazados en dichos tubos de potasa, y se permitió al líquido mezclarse con los orines ácidos. Neutralizados éstos se sometieron seguidamente á una temperatura constante de 122° F., que según el doctor Bastian es especialmente favorable para la producción de organismos.

Pero dicho aserto del doctor últimamente citado, no pudo comprobarse, puesto que los diez tubos preparados á fines de septiembre, de la manera que acabamos de citar, quedaron estériles durante más de dos meses. Y por nuestra parte no dudamos que hubieran permanecido del mismo modo indefinidamente.

Además, tres retortas parecidas á las empleadas por dicho doctor Bastián y provistas de tubos de potasa conteniendo orines frescos, hervidas el 29 de septiembre, fueron cerradas durante la ebullición. Algunos días después los tubos de potasa se rompieron y neutralizáronse los orines. Sometidos durante más de dos meses á la temperatura (considerada favorable) de 122° F., *quedaron completamente inalterables.*

La comprobación se dió por terminada. No quedaba duda que los resultados de dichos experimentos eran idénticos á los obtenidos por el doctor Roberts, con una sola diferencia, que los tubos de potasa de éste fueron expuestos á una temperatura de 280° F., mientras que los de Tyndall solamente lo fueron á una de 220° F.

(1) Extractado de los procedimientos verificados en la Real Sociedad de Londres núm. 176, 1876.

Por lo que respecta á la elevación de la potasa á una temperatura más elevada que la del agua hirviendo, M. Pasteur ha sobrepujado al doctor Roberts y Tyndall. En una comunicación presentada á la Academia de Ciencias el 17 de julio, el sabio francés demostró que tomando las precauciones necesarias se podía añadir á los orines neutralizados, potasa—calentada al rojo si se la empleaba en estado sólido, ó á 110° C. si lo fuese en estado líquido—sin temor á ningún desarrollo ulterior de vida (1).

Posteriormente M. Pasteur habló á Tyndall de un sencillo aparato con el cual se proponía comprobar lo expuesto por el doctor Bastián en sus conclusiones, y á lo que parece, verificado dicho experimento por el sabio francés á su regreso de Arbois, los resultados obtenidos *fueron totalmente contrarios* á los de nuestro célebre heterogenista.

Podemos añadir á mayor abundamiento que Tyndall no se limitó á las treinta muestras de orines de que hemos hecho mención. Los experimentos verificados posteriormente por él, alcanzan ya una suma de *ciento cincuenta tubos* sin que ninguno de ellos haya dado lugar á dudas, *ni presentado indicio favorable de ninguna especie en apoyo de la generación espontánea*.

NOTA B

Carta al profesor Huxley á propósito del método de calefacción discontínua. (2)

Con respecto á la importante cuestión de la calefacción discontinua de que nos hemos ocupado en los párrafos anteriores, he aquí textualmente lo que escribía Tyndall á su amigo Huxley en 14 de febrero de 1877:

«Mi querido Huxley:

»En mi nota preliminar comunicada á la »Sociedad Real el 18 de enero, cité varias in»fusiones que presentaban una extraña resis»tencia á la esterilización por la calefacción. »Indiqué además el origen probable de seme»jante resistencia y he sabido después que us»ted ha tenido la bondad de emitir una opinión »favorable acerca la significación y el valor »de mis resultados.

»Creo, pues, que habrá de interesarle saber »que las infusiones más obstinadas entre las »mencionadas en mi citada *Nota*, han sido al »cabo esterilizadas por un medio muy sencillo. »Gracias á las sugestiones que me ha sumi»nistrado la teoría de los gérmenes, he logra»do preservar todas mis infusiones de la con»taminación, y esto aun en la más infecciosa »de las atmósferas y en temperaturas mucho »más bajas que la de ebullición.

»Es sabido que la aplicación prolongada de »una temperatura baja, á menudo es el equi»valente de la acción más corta de una tem»peratura elevada: puede V., pues, concluir »de esto que en los experimentos á que me »refiero, el tiempo ha tomado el lugar del ca»lor como intensidad. Esto no tiene nada de »particular. El resultado depende únicamente »de la manera de aplicación del calor. Por »ejemplo: hago hervir una infusión durante »quince minutos, la dejo reposar á una tem»peratura de 90° Fahr. y veinticuatro horas »más tarde la encuentro llena de vida. Pues »someto otra porción de la misma infusión á »una temperatura inferior á la de ebullición »durante cinco minutos y queda indefinida»mente estéril.

»He aquí todo el secreto de la operación. »Ya había yo insistido acerca el *período la»tente* que precede á la nebulosidad de las in»fusiones infectadas de bacterios. Durante ese

---

(1) Ya hace más de catorce años que M. Pasteur ha manifestado que los líquidos alcalinos son más difíciles de esterilizar que los ácidos. Véanse los *Anales de Química*, 1862, vol. LXLV, p. 62.

(2) Estractada de los *procedimientos verificados en la Sociedad Real de Londres*, v. 178. 1877.

»período, los gérmenes se preparan para su »transformación en organismos definidos. Al- »canzan, por otra parte, sucesivamente el li- »mite de ese período de preparación, depen- »diendo la duración del estado latente de cada »uno de los gérmenes, de su estado de seque- »dad y endurecimiento. Considerando esto, »he aquí, pues, mi manera de proceder: antes »que haya terminado el período latente de »cada uno de los gérmenes (esto es, algunas »horas después de la preparación de las infu- »siones), los someto durante un corto período »de tiempo á una temperatura que puede ser »inferior á la de ebullición. Todos cuantos »estén á punto de adquirir la vida activa, de- »bilitados por el ataque verificado precisa- »mente en la ocasión oportuna, sucumben »desde luego; sin embargo, otros cuya resis- »tencia es mayor por estar ya en dicho perío- »do latente, resisten el ataque y permanecen »incólumes. Repito, pues, para éstos la ope- »ración y antes que los más avanzados de los »sobrevivientes hayan traspasado su período »latente, y disminuyo con esto el número de »gérmenes resistentes, destruyendo de nuevo »los menos y debilitando los más, hasta que »tras cierto número de repeticiones que varían »según la naturaleza de los gérmenes y la de »las infusiones, *los líquidos más resistentes* »*quedan esterilizados*.

»La duración de los períodos de calefacción »no excede nunca de una fracción de minuto. »Ahora bien, si sumamos esos períodos de »una de las infusiones que hemos esterilizado »y suponemos que arrojen cinco minutos de »calefacción, apliquemos luego á otra porción »de la misma infusión, no ya cinco, sino quin- »ce, ó hasta sesenta minutos de ebullición »continua y dará un resultado contraprodu- »cente, nos admiraremos de ver como al poco »tiempo se desarrolla la vida en su interior; »luego es indudable que la calefacción discon- »tinua es susceptible de producir un efecto »que no puede alcanzar la continua en un »período de tiempo diez veces mayor.

»Espero poder presentar dentro de poco, re- »sultados más completos á la Sociedad Real, »en el interin, si V. cree que estos datos ge- »nerales pueden en algún modo interesar ó »llamar la atención de los miembros de dicha »Sociedad, agradeceré á V. se sirva comuni- »cárselos.

»De V. afectísimo amigo, etc.,

»*J. Tyndall.*»

CAPÍTULO IV

DE LA FERMENTACIÓN Y SUS RELACIONES CON LA CIRUGÍA Y LA MEDICINA



No de los hechos más característicos de la presente época, consiste en sus deseos, en sus tendencias á averiguar cómo el actual orden de cosas ha llegado al estado en que se encuentra. Cuanto más seriamente se estudia y profundiza este problema, tanto más claramente se vé que el mundo de nuestros días debe á las épocas precedentes cuanto actualmente le informa, puesto que en ellas el hombre, por su inteligencia, su valor y su constancia, ó sea por el empleo bien entendido de sus fuerzas todas, ha llegado á transformar la tierra.

No cabe duda que nuestros antepasados, aquellos que existieron en las épocas prehistóricas, fueron salvages, pero salvages hábiles y observadores. Ellos fundaron la agricultura por el descubrimiento y el empleo de los granos, cuyo origen actualmente es desconocido. Ellos vencieron y domaron á sus antagonistas animales, de los cuales hicieron útiles auxiliares en vez de rivales peligrosos. Y por último, cuando el deseo del lujo se unió á la necesidad, los vemos volverse inventivos é industriosos.

No tenemos ninguna noción histórica acerca el primer cervecero, por ejemplo, ignoramos quien fué, pero sabemos sin embargo que la fabricación se practicaba ya hace más de dos mil años atrás, puesto que Teofrasto, que nació cuatrocientos años antes de la era cristiana, describe la cerveza, hablándonos de ella bajo el nombre de *vino de cebada*. Es difícil conservar este líquido en los países cálidos; á pesar de ello, en Egipto, que fué el primer país que la fabricó, el deseo del hombre de apagar su sed con ese brevaje embriagador, hizo que superase todos los obstáculos que un clima poco benigno oponía á la fabricación.

Nuestros abuelos ya aprendieron, sin duda por la experiencia, que el vino alegra el corazón. Se cuenta que Noé plantó una viña, bebió de su vino y sufrió las consecuencias del mismo. Pero aunque el vino y la cerveza tengan muy larga historia, sólo hace pocos años relativamente que se ha descubierto el secreto de su preparación.

Contrayéndonos á la última, á la cerveza,

se puede decir que hasta entonces ninguna observación científica había establecido la manera de ser de los agentes que entran en su fabricación, ni las condiciones necesarias á su bondad y conservación, como si dijéramos á su *salud* y á las *enfermedades* á que está sujeta. Hasta entonces el arte del cervecero era parecido al del médico: ambos se fundaban en la observación empírica. Entendemos por esto la observación y el empleo de hechos, sin darse cuenta de los principios que les rigen. El cervecero aprendió de la experiencia las condiciones, pero no la causa de los resultados. Las contrariedades más ó menos numerosas que le dejaban perplejo, se presentaron á menudo. En ciertos casos todos los cuidados habrán sido infructuosos. La cerveza, á pesar de ellos y del fabricante, se acidula, se putrifica, siendo esto causa de pérdidas desastrosas que la ignorancia del cervecero no puede evitar.

Hay ocultos enemigos contra los cuales el cervecero y el médico han luchado en vano hasta hoy, pero recientes investigaciones han hecho luz en ello, preparando así la vía para su próximo y final exterminio.

Echemos por un momento una ojeada sobre las señales exteriores y visibles de la fermentación.

Visitando Tyndall cuando su viaje á Suiza un destilatorio de un particular ó privado, situado en un *chalet*, vió que en la habitación que servía de dormitorio al dueño, se hallaba una pipa ó tonel con un ancho agujero cuidadosamente tapado: contenía cerezas que debian estar metidas allí por quince días. No estaba lleno por completo, al contrario se había dejado de intento un vacío, una cámara de aire, cuando la introducción de la citada fruta. Tyndall lo destapó y colocó una lamparilla cerca del agujero, cuya llama se apagó al instante. El oxígeno del aire había desaparecido por completo tomando su lugar el ácido carbónico (1). Probó las cerezas: estaban agrias á pesar de estar muy dulces antes de su introducción en el tonel.

(1) El gas que se exhala de los pulmones después que el oxígeno del aire ha regenerado la sangre: el mismo también que se escapa del agua de seltz y del champaña.

Dichas cerezas y el líquido que con ellas había, se vaciaron en una vasija de cobre que se cubrió cuidadosamente con una tapadera del mismo metal. De la tapadera partía un tubo también de cobre que atravesaba por un vaso lleno de agua fría y se abría al exterior. Debajo del extremo abierto del indicado tubo se colocó una botella destinada á recibir el espíritu destilado. Debajo de la vasija ardían unas astillas y al cabo de algún tiempo de calefacción, se elevó un vapor que el agua fría condensó en el tubo y cayó, primero gota á gota y luego formando un hilillo de líquido, en la botella. Así que se gustaba este líquido se reconocía que el producto obtenido era ese espirituoso, fuerte y tóxico líquido conocido en el comercio con el nombre de Kirsch ó Kirschwasser.

Ya se recordará que las cerezas estaban abandonadas á sí mismas, que ningún fermento de cualquiera especie que fuese, se les aplicó ó puso en contacto con ellas. Con respecto á esto, lo dicho de la cereza puede aplicarse á la uva. En la época de la fabricación, el fruto de la vid se abandona á su propia acción en vasijas ó toneles á propósito. Allí fermenta produciendo ácido carbónico: su dulzura desaparece, y al cabo de cierto tiempo el zumo inactivo de la uva se convierte en caldo alcohólico. Aquí, lo mismo que en el caso de las cerezas, la fermentación es *espontánea*. Esplicaremos inmediatamente después en que sentido es necesario entender esta palabra.

Casi es inútil que digamos, siendo ya muy conocida la fabricación de la cerveza, que el cervecero no procede con la cebada de la manera referida con respecto á las cerezas y uvas. Por lo pronto no se sirve del zumo del fruto, sino del de la cebada. Esta, habiéndose templado durante un tiempo suficiente en el agua, es escurrida y luego sometida á una temperatura conveniente para provocar la germinación del grano, después de lo cual se seca en un horno. Entonces recibe la denominación de *malto*. Este cruje al triturarle con los dientes y es mucho más dulce que la primitiva cebada. Luego se tritura, se somete á la maceración en agua caliente y se hierve con el lúpulo hasta la extracción completa de la to-

talidad de sus partes solubles; la infusión así producida se denomina *mosto*. Este se decanta y se enfría lo más rápidamente posible: luego en vez de abandonar el líquido á su propia cocción como hace el vinatero, el fabricante de cerveza mezcla su mosto con levadura y mezcla el todo en vasijas que tienen una sola abertura en comunicación con el aire. Luego después una espuma obscura, que es en realidad una nueva levadura, sale por la indicada abertura y se derrama precipitándose como un torrente en un pilón ó depósito convenientemente colocado para recibirla. Este hervimiento del mosto es una prueba de que la fermentación es activa.

¿De dónde procede esa levadura que con tal abundancia se escapa de la vasija ó tonel? ¿qué es y cómo se halla en posesión del fabricante? Examinemos su cantidad antes y después de la fermentación. El cervecero introduce, por ejemplo, 10 litros de levadura y recoje tal vez 40 ó 50. Esta levadura ha aumentado, pues, cuatro ó cinco veces durante la fermentación. ¿Concluiremos de ello que esa cantidad adicional de levadura ha sido engendrada *espontáneamente* por el mosto? ¿No se nos presentará más bien á la imaginación en este caso el recuerdo de la semilla que habiendo sido sembrada en terreno fértil produce treinta, sesenta y hasta cien veces el fruto que representa? Examinándola se verá que esa noción es más que una simple hipótesis.

En el año 1680, cuando el microscopio estaba todavía en su infancia, Leuwenhoeck dirigía el instrumento á la levadura, hallándola compuesta de pequeños glóbulos en suspensión en un líquido. Y no supimos más hasta 1835, en cuya época, Cagniar de Latour, en Francia, y Schwenhann en Alemania, independientemente uno de otro, pero animados ambos por un mismo pensamiento, se sirvieron del microscopio ya mucho más perfeccionado, para observar la levadura de la cerveza, hallándola *fermentando* y reproduciéndose ante su vista. El aumento de esta substancia apareció ser el resultado del crecimiento de una pequeña planta denominada *torula* (ó *saccharomyces) cervisiæ*. Luego la generación *espontánea* no tiene nada que ver en eso. En definitiva, el fabricante de cerveza á imitación del labrador siembra la planta de la levadura que crece y se multiplica en su mosto, lo mismo que las simientes en un terreno fértil.

Pero ¿dónde encuentra el cervecero dicha levadura? La respuesta á semejante pregunta es la misma que daríamos si se nos preguntase dónde encuentra su cebada. Ha recibido las semillas de ambas, de las generaciones precedentes. Si pudiéramos unir sin solución de continuidad el presente al pasado, podriamos probablemente relacionar del propio modo la levadura empleada en la actualidad por el fabricante Forrell Buxton con la de que se servía el cervecero egipcio de hace ya dos mil años. Pero puede suponerse sin temor á equivocarse, que ha habido una época en que la primera célula de levadura fué creada, exactamente del propio modo que hubo un tiempo en que se creó el primer grano de cebada. No hay que creer sin embargo que cuanto más pequeña sea una cosa nazca más fácilmente. El origen de la cebada y de su levadura se pierde en la noche de los tiempos, y hasta ahora no tenemos más pruebas de la generación espontánea de la una que de la espontánea generación de la otra.

Dijimos hace poco que la fermentación del zumo de la uva *era espontánea;* pero nos hemos apresurado á añadir que explicaríamos inmediatamente después en qué sentido era necesario entender dicha palabra: he aquí, pues, lo que significa. El fabricante de vino no debe, como el de cerveza y el destilador, introducir por su iniciativa propia bien sea la levadura ó bien un equivalente de ésta en sus lagares; no siembra en ninguno de ellos ni planta, ni el grano de ninguna planta; antes bien ha estado hasta el presente ignorando qué plantas ó gérmenes tomaban una parte muy activa en sus operaciones. Sin embargo, así que se examina el zumo de uva fermentado, se ve aparecer la *torula* de la fermentación alcohólica. ¿Es esto posible? Si no se han introducido gérmenes vivientes en el zumo, ¿de dónde procede la vida que se observa en él de una manera invariable?

¿Se puede contestar con Turpin y otros que en virtud de un poder propio que le es inhe-

rente, el zumo de la vid cuando se le pone en contacto con el vivificante oxígeno atmosférico, da espontáneamente nacimiento á esas formas inferiores de la vida? No podría oponerse la más ligera objeción á dicha explicación, siempre que estuviese apoyada por hechos comprobados: pero las pruebas inequívocas en favor suyo no resisten que sepamos á la más ligera crítica científica. Los razonamientos aducidos por los representantes de esa escuela, nada prueban, sus argumentos son pruebas de clari-videntes y hábiles *observadores,* pero no de rígidos *experimentadores*. Estos son los únicos capaces de tomar toda clase de precauciones necesarias á la averiguación ó en las investigaciones de semejante naturaleza. ¿Cuál es, pues, relativamente al jugo de la vid, ó mejor dicho, al zumo de la uva, la decisión de los experimentos practicados por hombres competentes? Supóngase por un momento que se hace hervir cierta cantidad de *mosto* de uva, filtrado de manera que puedan desaparecer los gérmenes que haya podido adquirir por el contacto con el aire privado de esas materias en suspensión: el mosto hervido no fermentará jamás.

Todas las condiciones consideradas eficaces para la generación espontánea se hallan ahí, y á pesar de ello, por grande que sea el período de tiempo que tarde á sembrarse el grano, no se desarrollará la vida, y por consiguiente la fermentación que es su consecuencia, no tendrá lugar. Pero aún no hay necesidad de manipular con el zumo hervido. El natural, el de la uva, está protegido del contagio exterior por su propia piel. Pues bien, por un ingenioso procedimiento, Pasteur extrae el zumo puro del interior de la uva y ha demostrado que, puesto en contacto con el aire purificado, dicho zumo no goza la propiedad de fermentar por sí propio, ni tampoco la de causar la fermentación en otros líquidos (1). No es, pues, en la uva donde debe buscarse el orígen de la vida que se observa en el filtro. Entonces ¿cuál es su origen? He aquí lo que contesta Pasteur, cuya experiencia y minuciosa manera de investigar, muy conocidas, hacen digno de toda confianza; no decimos cuya autoridad es incuestionable, por no herir ninguna de esas susceptibilidades tan frecuentes en los sabios que son los que menos debían tenerlas.

En la época de la vendimia, dice, se observan partículas microscópicas adheridas á la vez al racimo de las uvas y á los tallos que las sostienen. Sacudid esas partículas sobre una cápsula de agua pura: ésta se enturbiará con el polvillo que habrá caido en ella. Examinando con el microscopio dichas partículas, se verá que tienen el aspecto de células orgánicas. En vez de hacerlas caer sobre el agua, recibámoslas en un zumo puro de uva: cuarenta y ocho horas más tarde veremos aparecer la *torula* que tanto conocemos, brotando y desarrollándose, y acompañando al crecimiento otras señales de fermentación activa.

¿Qué habrá de deducirse del anterior experimento? Evidentemente que las partículas adheridas á la superficie externa del racimo encierran el germen de esa vida, que así que se han esparcido, que se han mezclado al zumo, aparece con tal profusión.

El fermento de la uva lanza como una especie de parásito á su superficie; y el arte del vinatero ha consistido, de tiempo inmemorial, en poner—inconscientemente se puede decir—dos cosas de tal manera asociadas por la naturaleza en contacto una con otra: puesto que después de millones de años, lo que ha sido hecho con conocimiento de causa por el cervecero ha sido hecho igualmente, pero de una manera empírica por el vinatero. Tanto uno como otro han sembrado su levadura.

No es necesario impregnar el mosto de cerveza para provocar su fermentación. Abandonada al contacto del aire ordinario fermenta más temprano ó más tarde; pero se corre así la eventualidad que el producto de la fermentación no sea muy agradable al paladar. Por un accidente raro podemos obtener la verdadera fermentación alcohólica, pero las circunstancias contrarias que hay que vencer son extremadamente numerosas. Obrando el aire puro sobre un líquido priva-

(1) Los líquidos del cuerpo de un animal sano están igualmente protegidos del contagio externo. La sangre pura, por ejemplo, extraída con precaución de las venas, no fermentará ó putrificará jamás en contacto con el aire purificado.

do de vida, no provoca jamás la fermentación; pero nuestro aire ordinario es el vehículo de innumerables gérmenes que obran como fermentos así que caen sobre líquidos apropiados. Algunos de ellos producen la acidulidad; otros, la putrefacción.

Los gérmenes de la levadura se hallan igualmente en el aire, pero están esparcidos en él con tanta parsimonia, que una infusión como el mosto de cerveza está expuesta, casi con seguridad, á ser invadida por gérmenes extraños: por lo cual los contratiempos, ó llamémosles *enfermedades* de la cerveza, son debidas todas á la inmixtión de esos fermentos, cuya forma y manera de nutrición son enteramente diferentes de los de la verdadera levadura.

Practicando ciertas investigaciones en una atmósfera cargada de gérmenes de semejantes organismos, se comprenderá perfectamente la facilidad que hay de equivocarse cuando se estudia una separadamente. En realidad, solamente el experimentador muy acostumbrado á esta clase de estudios y que se arma de toda clase de precauciones, para evitar las conclusiones prematuras, puede aventurarse en un terreno sembrado de precipicios. Esto es lo que el químico Pasteur ha demostrado ser. El nos ha enseñado á separar los diversos fermentos del aire y á estudiar su acción individual. Guiados por él fijaremos más particularmente nuestra atención acerca el crecimiento y la manera de acción de la verdadera planta de la levadura en diferentes condiciones. Sembrémosla, digámoslo así, en un líquido fermenticible, puesto en contacto con el aire puro. Nuestra planta se desarrollará en la infusión convenientemente aireada y se desprenderán grandes cantidades de ácido carbónico, compuesto que según sabemos está constituído por el carbono y el oxígeno libre de aire que suponemos abundantemente suministrado al líquido.

La acción producida es semejante en un todo á la respiración de los animales que inspiran oxígeno y expiran ácido carbónico. Si examinamos nuestro líquido hasta cuando el vigor de la planta ha alcanzado su máximum, encontraremos apenas un rastro de alcohol. La levadura ha crecido, se ha desarrollado, pero casi ha cesado de obrar como fermento. Y si pudiéramos impedir la acción del oxígeno sobrenadando en el líquido en cada célula individualmente, por cierto que cesaría igualmente de obrar como fermento.

¿Cuales son, pues, las condiciones en las cuales la planta de la levadura debe ser colocada para utilizar su propiedad característica? La reflexión acerca los hechos referidos antes sugiere una contestación que se halla confirmada por la experiencia. Consideremos las cerezas alpestres en su tonel cerrado. Consideremos, al propio tiempo, la cerveza en su tonel con la aberturilla destinada no para hidratarse del oxígeno de la atmósfera, sino para desprenderse del ácido carbónico. ¿De donde procede el oxígeno necesario á la producción de este último gas? La pequeña cantidad de aire atmosférico disuelto en el líquido es insuficiente para producirlo.

La planta de la levadura no puede obtener más que de una sola manera el oxígeno indispensable á su respiración: descomponiendo las substancias ambientes que contienen este gas en estado de combinación. Obra sobre el azúcar contenido en la solución en que se desenvuelve, produce calor, expele el ácido carbónico y deja como residuo el alcohol ordinario que conocemos todos.

El acto de la fermentación no es, pues, otra cosa que el esfuerzo que hace una pequeña planta para mantener su respiración con ayuda del oxígeno *combinado* cuando el oxígeno libre le falta. Como lo ha definido perfectamente Pasteur, la fermentación no es más que la *vida sin aire*.

Pero aquí los conocimientos de dicho investigador vendrán en nuestra ayuda para evitarnos caer en una causa posible de error. No son, dice, la totalidad de las células de la levadura las que pueden vivir sin aire y provocar la fermentación, sino más bien deben ser las células jóvenes, cuyo vigor vegetativo se ha desarrollado por su contacto con el oxígeno libre. Pero una vez adquirido dicho vigor pueden ser transportadas á las infusiones azucaradas absolutamente privadas de aire, donde continuarán viviendo á expensas de los elementos constituyentes de la solución: oxígeno, carbono, etc. En estas condiciones no

serán tan vigorosas *como plantas* que la levadura pone en contacto con el oxígeno libre, pero su acción *como fermento* será infinitamente mayor.

¿Unicamente la planta de la levadura posee el poder de provocar la fermentación alcohólica? Sería raro que entre la multitud de formas de vegetales inferiores existentes, no se encontrara alguno que obrase de una manera análoga. Esto nos ofrece otra nueva ocasión para maravillarnos de la sagacidad de los antiguos, á quienes ya somos deudores de tantas otras cosas. No sólo descubrieron la fermentación alcohólica de la levadura, sino que ejercieron una entendida selección separándola de los otros fermentos y concediéndole la primacía.

Coloquemos cierta cantidad de legumbres secas en un sitio húmedo ó expongamos al aire cualquier empanada ó bien un tarro de confitura: pronto se cubrirán de mohosidades azul-verdosas que no son más que la fructificación de una pequeña planta denominada *penicillium glaucum*. ¿Creereis por ello que el moho ha nacido espontáneamente en las legumbres y las pastas ó confituras? Esos gérmenes, que abundan mucho en el aire, han sido implantados, sembrados allí, y han germinado y se han desarrollado absolutamente de la misma manera que las semillas de los cardos en un suelo fértil.

Introduzcamos los gérmenes del *penicillium* en un líquido fermentable que haya sido antes hervido, á fin de destruir las esporas ó semínulas que pudiera contener; el *penicillium* crecerá rápidamente hundiendo sus largos filamentos en el líquido y fructificando en la superficie del mismo. Si probáramos la infusión en épocas diversas, no hallaríamos jamás el más leve rastro de alcohol. Pero, sumerjamos la pequeña planta, obliguémosla á permanecer hundida en el líquido de manera que la cantidad de oxígeno libre que pueda absorber sea insuficiente para mantener su vida. Principiará desde este momento á obrar como un fermento, produciendo con la descomposición de su azúcar el oxígeno de que tiene necesidad y el residuo de semejante descomposición será precisamente alcohol.

Otras muchas plantas microscópicas inferiores obran de la propia manera. Se desarrollan en los líquidos aireados sin producir alcohol.

Si suprimimos el exceso de oxígeno, inmediatamente darán nacimiento á ese cuerpo, exactamente de la misma manera que la verdadera levadura la engendra; la única diferencia consiste en la cantidad. Debemos semejantes descubrimientos y explicaciones á Pasteur.

En los casos que hasta ahora hemos considerado, la fermentación ha demostrado ser el correlativo invariable de la vida, siendo producida por elementos extraños á la substancia fermentable. Sin embargo, esta misma puede contener los elementos necesarios á la fermentación. La planta de la levadura es, como sabemos, un agregado de células vivientes, pero en resumen todas sus células son separadamente, como han demostrado Sehleiden y Selwonn, organismos vivientes.

Las cerezas, manzanas, melocotones, peras, ciruelas y uvas están compuestas todas por células, cada una de las cuales es un ser viviente. Y ahora vamos á permitirnos llamar la atención de nuestros lectores acerca un punto muy interesante. En 1821 el químico francés Berard dejó sentado el importante hecho de que todas las frutas próximas á madurar absorvían el oxígeno de la atmósfera desalojando un volumen aproximadamente igual de ácido carbónico. Halló también que cuando se colocan en un espacio limitado las frutas maduras, principian por absorver el oxígeno de la atmósfera y desalojan luego un volumen sensiblemente igual de ácido carbónico. Pero este fenómeno concluye allí. Después que el oxígeno ha desaparecido, el ácido carbónico, en cantidad considerable, se exhala contínuamente de las frutas, las cuales pierden, al propio tiempo, una parte de su azúcar, volviéndose más ácidas al paladar, aunque la cantidad absoluta de ácido no haya aumentado.

Semejantes investigaciones tienen una importancia capitalísima, y Berard tuvo la sagacidad de considerarlo como una especie de fermentación.

De este modo las células vivientes de las frutas pueden absorver el oxígeno y exhalar

el ácido carbónico exactamente como las células de la levadura de la cerveza. Supongamos que el exceso de oxígeno sea completamente suprimido, ¿las células vivientes de las frutas morirán ó continuarán viviendo como la levadura al extraer el oxígeno del zumo azucarado que las baña? Semejante punto ofrece un interés teórico de suma importancia. Los experimentos concluyentes de Lechartier y Bellamy le dieron una contestación afirmativa, siendo confirmada al propio tiempo que explicada por Pasteur.

Berard demostró sencillamente la absorción del oxígeno y la producción del ácido carbónico; Lechartier y Bellamy probaron, además, la producción del alcohol, completando con ello la prueba de qué se trataba ahí de un caso de fermentación, por más que faltase el fermento alcohólico.

Tan convencido estaba Pasteur de que las células de una fruta cualquiera continúan viviendo á expensas del azúcar de la misma fruta, que cierto día que estaba sosteniendo una conversación en su laboratorio acerca de ello con M. Dumas, demostró su convicción diciendo calurosamente: «Apuesto lo que se quiera que si se colocase un racimo de uvas en una atmósfera de ácido carbónico, produciría alcohol y dicho ácido, con la continuación de la vida de sus células, que obrarían durante ese tiempo como las de la verdadera levadura alcohólica.»

Luego practicó el experimento y le dió el resultado previsto. Esto le movió á extender sus investigaciones. Colocó dos docenas de ciruelas debajo de una campana que llenó de ácido carbónico, y al lado del aparato dejó al descubierto otras dos docenas de la misma clase. Al cabo de ocho días comparó unas con otras, hallando una diferencia extraordinaria: las frutas descubiertas habían madurado, estando acuosas y siendo muy dulces; las otras estaban más duras que nunca, sin agua y ásperas. Trituradas y destilado su zumo se obtuvieron seis gramos y cinco décimas de alcohol, ó sea el 1 p.°/₀ del peso total de las ciruelas. Ni en estas ciruelas, ni en los racimos de uva de que se había servido antes Pasteur, no pudo descubrirse el menor rastro de levadura alcohólica.

Como Lechartier y Bellamy habían demostrado anteriormente, la fermentación fué el trabajo de las células vivientes de la misma fruta así que se las privó del acceso del aire. Además, así que dichas células se destruyeron con la trituración, cesó la fermentación. Este fenómeno era el correlativo de un acto vital y, por lo tanto, cesó con la extinción de la vida.

Lüdersdorf fué el primero que demostró, siguiendo el propio método, que la levadura no obraba como suponía Liebig, en virtud de su carácter *orgánico,* sino en virtud de su carácter *organizado:* destruyó las células de la levadura, triturándolas sobre una placa de cristal, y halló que después de la destrucción del organismo, aún que todos sus compuestos químicos estuviesen presentes, el poder de obrar como fermento había desaparecido por completo.

Por lo que respecta á Liebig hemos de permitirnos interponer aquí algunas observaciones. Al químico filósofo, reflexionando detenidamente, nada le pareció tan natural como ver en el acto de la fermentación un simple caso de instabilidad molecular, habiendo destruído el fermento los compuestos preexistentes. Bajo el punto de vista general, hay un fondo de verdad en semejante teoría; pero al proponerla Liebig no pensó que con ella daba á entender que desconocía las verdaderas funciones que ejercía la vida microscópica en la fermentación: quiso ver demasiado con los ojos del cuerpo y demasiado poco con los del espíritu. Descuidó el uso del microscopio, privándose con ello de las revelaciones que no habrían dejado de ejercer un gran influjo en su gran inteligencia.

Su hipótesis, como hemos dicho, era natural; fué una prueba palpable de su poder de penetración en todos los hechos relativos á las acciones moleculares; pero fué un error y como tal, ha servido para probar á algunos de sus partidarios más adictos que hasta el mismo maestro es susceptible de pecar.

Ya hemos indicado que nuestro aire estaba lleno de gérmenes de fermentos distintos de los de la levadura alcohólica, gérmenes que impiden á veces sériamente la acción de la última. Son como las malas hierbas de un

jardín que á menudo destruyen las verdaderas flores. Permítasenos poner un ejemplo: expongamos una determinada cantidad de leche al aire; después de cierto tiempo se volverá pútrida ó ácida, separándose, como la sangre, en coágulo y sucro: coloquemos una gota de dicha leche ante el anteojo del microscopio y examinémosla minuciosamente; se percibirán pronto ciertos globulillos grasientos animados por movimientos asaz rápidos denominados movimientos brownianos. Pero no hemos de ocuparnos demasiado de dichos movimientos, porque hay que buscar otro mucho más importante: algo extraordinario que se descubre aquí y allí por entre los citados globulillos; un largo filamento anguiliforme moviéndose entre ellos y separándolos á derecha é izquierda, atravesando en todas direcciones el campo focal del microscopio: una parte de los cambios verificados en la leche se debe á ese organismo que ha recibido la denominación de vibrión. En la leche coagulada se encuentran todavía otros organismos, pequeños, inmóviles y situados unos tras otros como los granos de un rosario. Ellos son los que causan la división de la leche en coagulo y sucro; ellos los que constituyen el fermento láctico de la leche, como la planta de la levadura es el fermento alcohólico del azúcar.

Pero la leche puede volverse pútrida ó no. Examinando con el microscopio una gota en semejante estado se ven hormiguear pequeños organismos, asociados á veces con los vibriones, á veces solos, manifestándose á menudo con movimientos rapidísimos. Pongámosla al abrigo de semejantes organismos y la putrefacción no tendrá lugar jamás.

Si exponemos al aire una costilla de carnero humedecida, en verano, pronto tendrá lugar la putrefacción: coloquemos una gota de su zumo fétido ante un potente microscopio y la veremos llena de los mismos idénticos organismos observados en la gota de leche pútrida. Estos microscópicos seres han recibido la denominación de *bacterios* (1) y son los agentes de toda putrefacción. Si guardamos la carne lejos de su ataque, se conservará tan sana como en el momento de cortarla de la res, la veremos *indefinidamente sana*.

Por lo tanto, principiamos á apercibirnos que existen en el mundo viviente del cual formamos parte, ciertos organismos que para ser vistos reclaman la ayuda de mejores ojos, ó sea el empleo de un microscopio de gran potencia, pero que no por eso dejan de ejercer una gran influencia ó una acción considerable sobre los seres más elevados.

Y ahora tratemos de buscar el origen de esos bacterios. Supongamos que llega á nuestras manos un polvo granuloso del cual se nos pide nuestra opinión, se nos invita á que determinemos en que consiste ó cual es la causa de dicha granulación. Examinándola, supongamos que decimos, con razón ó sin ella, que encierra simientes. Para asegurarnos de ello, sigamos suponiendo que preparamos una capa de tierra ad-hoc en nuestro jardín y sembramos en ella aquel polvo granuloso: al cabo de poco tiempo vemos desarrollarse á nivel del suelo de dicha capa una mezcla de plantas de *rumex* y de cardos. Antes de haber practicado dicha siembra, ni *rumex* ni cardos habían aparecido jamás en el citado jardín.

Si repetimos la propia operación una vez, dos, diez, cincuenta veces y nos da el mismo resultado, ¿qué tendremos que contestar á la pregunta propuesta? No hay duda que diremos: «No podemos asegurar cuál de esas par»tículas que componen los polvos que se nos »han entregado para el examen, sean las del »*rumex* ó las de los cardos, pero ciertamente »podemos afirmar que todos esos granos de »polvo son simientes de una y otra plantas.»

Y una vez metidos en el terreno de las suposiciones, sigamos suponiendo que llega de la propia manera á nosotros una serie de polvos cuyos granos disminuyen gradualmente en grosor, hasta quedar reducidos en partículas impalpables de polvo; admitamos que verificada la misma operación de la siembra anterior, al cabo de algunos días brota una colección bien definida de plantas, sean clavillos de especia, mostaza ú otras plantas pequeñas, puesto que ni la pequeñez de las se-

(1) Sin embargo, se ha reunido, bajo esa denominación, gran número de organismos que presentan indudablemente entre sí grandes diferencias.

millas, ni la de las plantas que resulten de ellas, alterará en lo más mínimo la validez de nuestras conclusiones: sin el menor cuidado ni temor de engañarnos, podremos afirmar que aquel polvo encerraba los granos ó gérmenes de la vida observada. Creemos que no existe en el dominio entero de las ciencias físicas un experimento más concluyente ó una deducción más racional.

Admitamos ahora que las plantas, ó mejor sus semillas, sean suficientemente ligeras para flotar por el aire, y que podemos verlas de la propia manera que los granos de polvo que hemos examinado puestos en nuestra mano, si semejante ó parecido polvo flota y el aire lo siembra, obrando como lo verificó antes la mano, y produce, de la propia manera, una recolección bien definida; ¿no podremos concluir de ello, ajustándonos á rigurosa lógica, que los gérmenes de dicha recolección se hallaban en aquellos polvos flotantes? Indudablemente.

Siendo, pues, esto innegable, vamos á sacar la consecuencia probando lo expuesto anteriormente: los esporos de la pequeña planta *penicillium glaucum* de que hemos hablado y á la cual nos referimos, son bastante ligeros para flotar ó quedar en suspensión en el aire. Una manzana, una pera, un tomate, ó como hemos citado anteriormente cierta cantidad de legumbres secas, una empanada ó un tarro de confitura, constituyen un suelo fértil para ese *penicillium*.

Si demostramos que cuando el polvo contenido en suspensión en el aire penetrando en dicho suelo produce mohos, mientras que en la ausencia suya, ni el aire, ni el suelo, ni ambos juntos pueden producirlos, será cierto, lógicamente cierto, que dicho polvo en suspensión contiene los gérmenes del *penicillium*, como los polvos, según la suposición antes citada, sembrados en el jardín, contenían las semillas de aquellas plantas, que se desarrollaron en el supuesto suelo fértil ó capa de tierra preparada para recibirlas.

¿Pero cómo puede verse dicho polvo en suspensión para dar entera fe á un recalcitrante con el testimonio innegable de su visión? Pues, muy fácilmente. Constrúyase un saloncito provisto de una puerta, ventanas y postigos. Déjese una aberturilla en uno de estos postigos, á través de la cual pueda penetrar un rayo de luz. Ciérrense la puerta y las ventanas y postigos, de modo que no pueda penetrar en el saloncito más luz que la proyectada por dicho rayo luminoso; el trazo de éste en el interior del saloncito, será desde luego perfectamente visible. Si se procura evitar todo movimiento de aire en el interior de dicho saloncito, el trazo lumínico irá debilitándose cada vez más, hasta que desaparecerá por completo. ¿Qué era lo que le hacía visible? El polvo contenido en dicho aire interior que cuando la citada iluminación, era tan palpable para nuestros sentidos visuales, como lo era aquel supuesto que figuramos tener y examinar en la palma de la mano. El polvo del aire impuro se deposita así gradualmente en el fondo y se adhiere á las paredes hasta que semejante gas se encuentra completamente libre de materias en suspensión.

Estamos, pues, en posesión de una base segura. Cortemos un trozo de carne como si quisiésemos preparar un biftec, y dejémosla digerir durante dos ó tres horas en agua caliente: tendremos así un extracto concentrado de zumo de carne. Haciendo hervir este líquido y filtrándolo obtendremos una infusión de vaca perfectamente límpida.

Expongamos cierto número de vasos cargados con dicha infusión al aire puro de una cámara convenientemente preparada, y al propio tiempo igual número de vasos, con la misma infusión, al aire del gabinete, que siempre contiene aquellos polvos en suspensión. De fijo que á los tres días, si se examinan estos últimos vasos con el microscopio, se hallarán cubiertos por los bacterios de la putrefacción, al paso que de tres meses y hasta tres años, examinados los primeros, se encontrarán—si han sido convenientemente esterilizados—tan claros y tan sanos, tan libres de bacterios como lo estaban el día de su introducción en la cámara.

Y sin embargo, no hay ninguna diferencia en aquel aire interior y el exterior más que el uno está libre de polvo en suspensión y el otro no; por lo demás es el mismo. Confirmemos ahora el experimento de la manera siguiente: abramos la cámara y dejemos pe-

netrar el aire exterior con su polvo en suspensión. Tres días después aquellos vasos, que habían resistido durante tanto tiempo, estarán llenos de vida orgánica, hormiguearán los bacterios en su interior y su estado de putrefacción activa saltará á la vista.

La deducción que resulta de semejante hecho es tan racional como aquella anterior del supuesto de las semillas sembradas en nuestro jardín. Multipliquemos las pruebas á fin de que las dudas del más recalcitrante queden destruídas: construyamos *cincuenta* cámaras en vez de una y variemos de todas las maneras posibles las infusiones: animales salvajes y domésticos, carne, pescado, volatería, vísceras del tallo de las plantas, vegetales, todas cuantas clases de substancias y especias podamos utilizar, utilicémoslas. Si en todas ellas hallamos que el polvillo en suspensión produce infaliblemente esa recolección de bacterios, mientras que ni el aire puro, ni la infusión nutritiva, ni ambos á dos juntos, sean capaces de producirla, nuestra conclusión sencilla é irresistible será *que el polvillo en suspensión en el aire contiene los gérmenes de la recolección que ha aparecido á nuestra vista en dichas infusiones.*

Repetiremos que no hay una sola deducción en toda la ciencia experimental más cierta que esa. Ante semejantes hechos, diremos, usando una frase de una de las memorias de Tyndall publicada en las *philosophical transactions,* que, *es simplemente monstruoso afirmar que esos enjambres de bacterios han sido engendrados espontáneamente.*

No existe entonces ninguna prueba experimental de la generación espontánea? No vacilaremos en contestar: *ninguna.*

Pero, entre dudar de la prueba experimental de una cosa y de su posibilidad, hay una gran diferencia, por más que ciertos escritores parece ser que confunden ambos conceptos.

En realidad, la doctrina de la generación espontánea bajo una ú otra forma, se desprende de las teorías de algunos de los investigadores más avanzados de nuestra época; pero éstos son hombres que aunque dotados de gran penetración y gran sinceridad, no ven lo endeble de las pruebas que aducen al afirmar aquella.

Observemos como sus descubrimientos concuerdan con los usos y hechos de la vida práctica. El calor destruye los bacterios, el frío los entumece ó enerva. Cuando los cocineros tienen faisanes que temen se deterioren y desean conservar frescos, los cuecen parcialmente, destruyendo, sin sospecharlo, los bacterios que contienen y prolongando así el momento de la putrefacción. Y lo mismo sucede con la leche: hirviéndola no se acidula.

Describiremos las observaciones que Tyndall, queriendo estudiar la influencia del frío, tuvo ocasión de verificar en las hormigas cuando su viaje á los Alpes: aunque en aquella época calentase extraordinariamente el sol, la nieve se había conservado en los elevados picos de las montañas. Viendo algunas hormigas que circulaban por entre las hierbas y sobre las rocas, caldeadas por los rayos solares, quiso trasladar unas cuantas y depositarlas sobre la nieve, quedándose sorprendido de la rapidez con que obró el frío en ellas, puesto que quedaron paralizadas por completo al cabo de pocos segundos. Una de las más vigorosas perdió enteramente todo poder de locomoción, quedando inerte sobre la nieve. Vuelta á llevar al sitio donde antes se encontraba, dejándola sobre aquella misma roca caldeada, á los pocos segundos volvió á entrar en posesión de sus sentidos, recobrando todas sus facultades locomóviles y reviviendo por completo. Verificada una nueva inmersión en la nieve, el efecto fué aún más rápido, la inercia más acentuada.

Lo que sucede con las hormigas es lo mismo que se verifica particularmente en los bacterios. Su vida activa queda suspendida con el frío, y con ella, su poder de producir la putrefacción. Hé ahí en que consiste el secreto de la conservación de la carne por medio del frío. El vendedor de pescado, por ejemplo, cuando envuelve su mercancía, extraordinariamente atacable por aquellos, entre bloques de hielo, suspende la putrefacción reduciendo á la inanición y al enervamiento los organismos que la producen, y puede estar seguro que mientras dure ésta, su pescado se mantendrá fresco.

La extraordinaria actividad que adquieren los bacterios en los calurosos días del verano,

es la causa de que sufran á menudo tan grandes pérdidas capitales donde la aglomeración de carnes es mayor y cuyas pérdidas son á su vez causa de la carestía de la misma.

Algunos guías, que han hallado la muerte entre los ventisqueros de los Alpes y han estado sepultados en la nieve durante largos años, cuando han aparecido otra vez, por casualidad, en la superficie, han dejado asombrados á los espectadores en vista del estado de conservación que presentaban. Parecía como si tan sensible desgracia hubiera tenido lugar el día anterior, á pesar de haberse dado el caso en uno de esos infelices de estar sepultado entre la nieve hacía más de cuarenta años. Pero el caso más extraordinario de esa naturaleza fué el del *mamouth* ó elefante primordial, descubierto en la Siberia á fines del siglo pasado, que sepultado en la nieve por espacio de más de doscientos años, no presentó, al aparecer de nuevo ante los rayos del sol, el más mínimo vestigio de descomposición, y hasta pudo servir durante algún tiempo de pasto á las fieras.

La cerveza es atacable por cuantos organismos hemos mencionado, que producen gérmenes, ácido acético, quienes ácido butírico, mientras que la levadura en sí es atacada por los bacterios de la putrefacción. Con respecto al brevaje particular que el cervecero desea fabricar, esos fermentos extraños pueden ser convenientemente denominados *fermentos de enfermedades*. Las células de la verdadera levadura son glóbulos, por lo común algún tanto alargados. Los demás organismos tienen, poco más ó menos, la forma de un anillito ó de una anguila, algunos de ellos adheridos unos tras otros como las cuentas de un rosario y presentando la forma de éste ó de un collar.

Cada uno de dichos organismos produce una fermentación y un perfume particular á los mismos. Poniendo la cerveza al abrigo de su acción se conservará inalterable indefinidamente. Sin ellos jamás puede echarse á perder. Pero se ha de recordar que sus gérmenes están en el aire, en los mismos vasos que se usan en la cervecería, hasta en la misma levadura que se introduce en el mosto. Consciente ó inconscientemente el arte del cervecero se ha de dirigir contra ellos. Su objeto ha de ser paralizarlos, ya que no destruirlos.

Además, para la cerveza la temperatura es una cuestión capital; el conocimiento de este hecho produjo una revolución completa en la fabricación de ese líquido en toda Europa. A propósito de esto Tyndall dice que cuando estudiaba en Berlín—en 1851—había ciertos sitios consagrados á la venta de la cerveza de Baviera, que había ya adquirido fama entre el público de aquella capital. Dicha cerveza estaba preparada por el procedimiento denominado de *baja fermentación*. Esta se denomina así en parte, porque su levadura, en lugar de elevarse hasta el agujero del tonel y derramarse por él, cae al fondo del último, pero también en parte, por estar producida á una baja temperatura. La otra clase de fermentación, denominada *alta*, es mucho más fácil de provocar, más expedita y menos costosa.

Con la alta fermentación bastan ocho días para producir la cerveza; con la baja son necesarios diez, quince y hasta veinte. Además, con este último procedimiento se consumen enormes cantidades de hielo. Unicamente en la cervecería Dreher, de Viena, se consume anualmente para el enfriamiento del mosto y la cerveza cien millones de libras de hielo. Pero á pesar del cuantioso gasto que representa ese gran consumo, la baja fermentación se adopta en todas las cervecerías ó fábricas más importantes del continente que reconocen los defectos de la baja; ó sea la primitiva.

Hé ahí algunas cifras que demuestran el número de fábricas de ambas clases existentes en Bohemia en 1860 y 1870, y el incremento comparativo que en esa década tomó el nuevo sistema, en el día ya casi generalizado.

	1860	1865	1870
Alta fermentación. . .	281	81	18
Baja id. . .	135	459	831

Como se ve, en diez años el número de fábricas de alta fermentación queda reducido de 281 á 18, mientras que el de la baja aumentó de 135 á 831. La única razón de tan gran cambio,—cambio que implica un gran

gasto de tiempo, trabajo y dinero,—es la seguridad que da al fabricante acerca la acción fortuita de los fermentos causa de la putrefacción. Estos fermentos que, como recordaremos, son organismos vivientes, nos ofrecen suspendida su actividad con una temperatura inferior á 10° C., y tanto tiempo como queden reducidos á su estado de marasmo la cerveza queda exenta de acidularse, ó sea libre de putrefacción.

La cerveza, en la baja fermentación, está braceada en invierno y conservada en frescas cuevas ó bodegas; el fabricante puede de este modo guardarla según desee ó le convenga, sin verse obligado á venderla á cualquier precio, temiendo que se le eche á perder si la conserva por más tiempo.

Por otra parte, el lúpulo obra, hasta cierto punto, como antiséptico en la cerveza. Su aceite esencial es bactericida, de ahí la fuerte proporción introducida en las cervezas destinadas á la exportación.

Esos organismos inferiores, que podrían mirarse como los comienzos de la vida, á poderse examinar con el microscopio que, por potente que sea, resulta ineficaz, no son en modo alguno nocivos al hombre. Solamente lo serían fuera del lugar que ocupan: en éste, por el contrario, ejercen una función que por más que se aprecie nunca se apreciará bastante, la de eliminadores, la de destructores de toda materia muerta, que con una rapidez inconcebible, sino fuera debida á semejante actividad, transforman en ácido carbónico y agua, ambas inofensibles; además, no todos son los mismos ó parecidos, y sólo una clase de ellos, muy restringida, es dañosa para el hombre.

Es digna de citarse aquí una diferencia esencial en sus costumbres. El aire, ó mejor dicho el oxígeno del aire, que es absolutamente necesario para la continuación de la vida de los bacterios causantes de la putrefacción, es, según Pasteur, mortal para los embriones que provocan la fermentación bútrica. Este hecho fué evidenciado por medio de la siguiente observación.

Una gota del líquido que contenía algunos de esos pequeños organismos se colocó sobre un cristal, que se cubrió con un disco igualmente de cristal, pero muy delgado: esta precaución es necesaria para poder observar con facilidad dichos organismos. Alrededor de dicha placa circular el líquido se pone en contacto con el aire que absorve, comprendiendo su oxígeno. En este sitio, si la gota de líquido está cargada de bacterios se observa una zona muy viva. Pero aunque ávida de oxígeno, éste no puede penetrar al interior á través de ella. Sucede, pues, que aquellos bacterios situados en el centro mueren, mientras que los que han quedado ó podido alcanzar la periferia gozan de una vida activa. Si una burbuja de aire, por casualidad ó intencionadamente, penetra en la gota del líquido, inmediatamente todos los bacterios se precipitan sobre ella rodeándola acumulados y ansiosos de vida, que dura hasta tanto que el oxígeno que contenía haya sido totalmente absorvido por los mismos; concluído éste, cesa todo movimiento bacterial.

Lo contrario tiene lugar con los vibriones del ácido butírico. Con éste los organismos periféricos perecen desde luego; los del centro, por el contrario, continúan disfrutando de la vida, aunque rodeados de una vida mortal. Además, Pasteur llena dos vasos con un líquido que contiene semejantes vibriones: en uno de dichos vasos introduce aire que los hace perecer á los treinta minutos, y en el otro ácido carbónico, que hace que al cabo de tres horas estén todavía llenos de vida.

La observación de tales fenómenos fué causa de que hace ya más de quince años germinara en el cerebro de ese admirable investigador la idea de la vida sin aire y su aplicación en la teoría de la fermentación.

Y ahora, hénos aquí ya de lleno en el punto donde queríamos ir á parar, que es el que más particularmente nos concierne ó interesa, y acerca del cual, y para que nos sirva de prolegómonos, referiremos un hecho acaecido al sabio Tyndall:

Hace algunos años, que estando dándose Tyndall un baño de ducha al natural en un torrente alpestre, al ir en busca de sus vestidos desde la cascada, bajo cuyo chorro se colocó para dicho objeto, tropezó, dando su desnudo cuerpo contra un bloque de granito, cuyos rajantes cristales no sólo le lastimaron,

sino que le causaron una profunda herida. Aunque esto no tuviera nada de agradable, como en dicha época gozaba una salud excelente, hizo poco caso de ella, creyendo desde luego curarse pronto la citada herida. Sumergió, pues, su pañuelo de bolsillo, perfectamente limpio, en la corriente; lavó con sumo cuidado dicha herida y de vuelta á su domicilio se metió en cama, la cual guardó por precaución durante cuatro ó cinco días. Pero sintiéndose bien, se levantó.

La herida realmente iba bien, ni estaba inflamada, ni daba pus. Por lo tanto, después de cubrirla con un trozo de tripa de buey, equivalente al tafetán inglés, Tyndall se fué á paseo y durante todo el día ni siquiera pensó en la tal herida.

Por la noche notó cierto calor y malestar; reconoció de nuevo la herida y quedó estupefacto al ver que manaba el pus; metióse de nuevo en cama después de haber reemplazado aquella película por un vendaje húmedo, que fué impotente para contener la acumulación de materia y el desarrollo de aquel principio de inflamación inesperado: la aplicación sucesiva del árnica fué peor todavía. La inflamación creció de una manera alarmante, hasta el punto de tener que necesitar el auxilio de sus amigos al par que el de la cirugía, por lo que tuvo que ser trasladado en hombros á Génova y abandonarse al cuidado de los mejores médicos.

Al día siguiente de su llegada, ó mejor dicho, de ser conducido á Génova, el doctor Gautier, bajo cuyos inmediatos cuidados le pusieron sus citados amigos, descubrió un abceso en el tobillo del cual estaba separada la herida cerca de cinco pulgadas, pero cuyo abceso estaba relacionado con ella por medio de una comunicación, ó *seno*, para servirnos del término técnico, y por medio de cuyo seno se pudo desalojar el pus sin necesidad de servirse de la lanceta.

¿Cómo se había formado dicho seno? ¿Por qué el tejido sano del tobillo y la herida, que en un principio había aparecido insignificante, habían llegado á tal estado, cuya curación obligó á Tyndall á guardar cama durante seis semanas? En el gabinete donde se hallaban los objetos con los cuales se practicó á sí propio la primera cura y se aplicó el primer apósito, se habían abierto durante el curso del año varias infusiones perfectamente claras y sanas de pescado, de carne y de vegetales.

Los tubos que contenían dichas substancias, herméticamente cerrados, habían sido expuestos durante varias semanas al calor del sol y al de la cocina á la vez, sin que dieran la más ligera señal de vida. Pero dos días después de haber sido abiertos, la mayor parte de ellos se llenó de bacterios, cuyos gérmenes procedían indudablemente del polvo en suspensión contenido en el aire del gabinete.

Por lo tanto, tenemos la convicción de que si se hubiera examinado la materia desalojada por la herida en vista del aspecto que presentó y el cambio tan rápidamente verificado, se hubieran hallado igualmente en ella los propios bacterios; se hubiera comprobado que dichos gérmenes al penetrar en la abierta herida, fueron la causa de la inflamación, del abceso y por ende del mal cariz que aquella tomó consecutivamente, y cuyas consecuencias hubieran podido ser fatales.

Esta aparente digresión nos conduce á examinar los trabajos de un hombre que á la gran penetración del teórico reune la habilidad y solícitos cuidados del experimentador, y cuya práctica es una demostración continua de su doctrina, cuya síntesis es la siguiente: la putrefacción de las heridas procede de los bacterios: luego destruyendo los gérmenes de éstos, se evitará aquélla.

No solamente según sus propias investigaciones, sino también según las de otros hombres eminentes que han visitado los hospitales, y también según opinan la mayor parte de los cirujanos entendidos, la introducción del sistema antiséptico, que debemos al profesor Lister, ha sido uno de los mayores progresos verificados en cirujía.

Cuanto más se avanza en el conocimiento de lo experimentado, tanto más interés despierta el asunto, que bien puede llamarse de trascendencia importantísima. Hemos principiado haciéndonos cargo de lo que sucede en una vasija de cerezas y un tonel de cerveza, y terminamos aplicando las propias teorías al cuerpo humano.

Existen hombres dotados de la facultad de

interpretar los hechos naturales, como existen otros privados de ella: á la primera clase pertenece, en grado superlativo, el ilustre filósofo Robert Boyle, cuyas siguientes frases relativas á este asunto constituyen una verdadera profecía: «Que se me permita exponer la opinión, dice en su libro *Essay on the pathological part of physik,* de que aquel »que comprenda la fermentación y la naturaleza de los fermentos, será probablemente »más apto que todos aquellos que la ignoren, »para dar una explicación acertada de las diversas enfermedades (las fiebres, por ejemplo,) que jamás se concebirán bien, sin antes »darse cuenta, aunque no sea más que superficialmente ó á la ligera, de la doctrina de »las fermentaciones.»

Han transcurrido dos siglos desde que se escribieron dichas palabras, y sólo en nuestra época ha sido cuando se ha podido apreciar la verdad que encierran. Por lo que atañe á la cirujía las previsiones de Boyle han sido plenamente justificadas.

Dejando ahora aparte la cirujía pura para ocuparnos de las enfermedades epidémicas, comprendiendo en éstas las fiebres palúdicas, á quienes Boyle relacionó con las fermentaciones con gran sagacidad, encontraremos una gran analogía entre un contagio y un fermento, al considerar el poder de *propagación* que ambos poseen y ejercen. Se conoce perfectamente la parábola de la levadura inserta en el Nuevo Testamento. Una partícula oculta en tres celemines de harina es suficiente para hacer fermentar la totalidad. Un poco de levadura hincha la masa entera. Del mismo modo una partícula de cualquier *contagio* penetra y se esparce por el cuerpo humano, y puede multiplicarse é invadir una población entera.

Consideremos el efecto que produce en la economía una cantidad microscópica de virus varioloso. ¿Habrá quién dude de que semejante virus obre como una simiente? Podemos, pues, decir que se siembra en el individuo como la levadura en el mosto de la cerveza y el grano de mostaza en el terreno fértil, que crece y se multiplica como crece y se multiplica la levadura, reproduciéndose siempre de sí mismo.

Somos deudores á M. Pasteur de una serie de admirables trabajos, en los cuales expone la nulidad de las antiguas nociones concernientes á la transformación de un fermento en otro. No dice que es imposible, porque el verdadero observador suele usar poco esa palabra, por más que solamente él podría tener derecho de usarla, pero como Pasteur jamás ha observado semejante transformación, mientras que siempre ha podido demostrar las causas que han dado orígen á que otros investigadores se hayan figurado observarla ó ver la que no existía (1), no quiere creer hasta nueva orden.

En el curso de este libro hemos indicado ya el gran orígen de error á que están expuestos á menudo los experimentadores. Estos trabajan en una atmósfera cargada de gérmenes de diferentes organismos; el simple estado de primera posesión hace que ora un organismo, ora otro quede triunfante. Además, en diferentes estados de su fermentación ó de su putrefacción, la misma infección puede ser invadida sucesivamente por diferentes organismos. Esto ha hecho que algunas veces una observación defectuosa haya hecho ver una transformación que en manera alguna existía; que se haya creído que los primeros organismos se habían transformado en los últimos cuando se trataba sólo simplemente de *gérmenes diferentes*, cuya acción se manifestaba en *tiempos distintos* en las infusiones.

Enseñándonos como se puede cultivar cada fermento en estado de pureza,—ó bien demostrándonos como se pueden separar los diversos organismos unos de otros,—Pasteur nos ha indicado la manera de evitar estos errores. Y cuando el aislamiento de un organismo dado se ha efectuado bien, crece y se multiplica indefinidamente, pero no se transforma jamás en otro fermento.

Según las investigaciones de Pasteur, un bacterio permanece siendo siempre bacterio,

---

(1) Los que deseen tener un ejemplo del minucioso cuidado que es necesario observar en las investigaciones, y de la falta de método que ha presidido por lo regular á éstas, podrán consultar las *Notas ó heterogénisis* del Rev. W. H. Dallinger, y sus revistas insertas en el *Popular Science Review*.

lo mismo que un vibrión no deja nunca de ser un vibrión; un penicillium, un penicillium, y un torula, torula. Si introducimos cualquiera de esos séres en estado de pureza en un líquido exento de otros, se obtendrán siempre idénticos cuando la recolección subsiguiente; lo mismo que cuando se introduce el virus varioloso en el cuerpo humano sano, sólo produce virus de la propia naturaleza.

Sembremos escarlatina y cosecharemos escarlatina; virus tifóideo, y nos dará la fiebre tifóidea; el cólera, y sufriremos los calambres que lo determinan. La enfermedad está en relación tan constante con su contagio, como los organismos precitados con sus gérmenes, ó como un cardo con su simiente. Nada tiene de particular, pues, que con analogías tan evidentes, se arraigue de día en día más la convicción de que la vida parasítica forma la base de las enfermedades epidémicas; de que los fermentos vivientes, encontrando en el cuerpo humano un medio á propósito para su desarrollo, crezcan y se multipliquen, destruyendo los tejidos en los cuales subsisten, y engendrando compuestos tóxicos que causen la muerte.

Esta conclusión, nacida de un convencimiento particular casi semejante á una demostración evidente, está confirmada por el hecho de que los organismos se han mostrado tan constantes en su correlación con las enfermedades infecciosas como el torula en la fermentación de la cerveza.

Permítaseme, de pasada, decir cuatro palabras, para fijar la atención de los pensadores *independientes*, de los que no tienen porque aferrarse á un sistema ó teoría, por no haber jamás defendido lo que en ellas se empeñan con inusitada tenacidad en defender sus partidarios, tal vez por el solo hecho de ser suyo, ó no querer transigir con nada que pueda contrariar la autoridad de la tradición, en una palabra, de los que afortunadamente se hallen libres de ideas preconcebidas.

Hemos llegado á un punto en tan importante asunto, que es preciso se haga luz de una vez para siempre, acerca el orígen de las enfermedades contagiosas y su desarrollo. Con este objeto, la acción de los diversos fermentos debe estudiarse en los órganos y tegidos de un sér viviente; la zona de acción de cada organismo especial, relacionada con la enfermedad que provoca, debe ser determinada; y debemos igualmente ocuparnos de averiguar como dichos gérmenes se esparcen y de la manera como originan las enfermedades infecciosas.

Solamente por medio de concienzudas y precisas investigaciones podemos esperar un día hacernos dueños del secreto que guardan estos microscópicos séres, apoderarnos de su acción y dominarlos. De modo que aún detestando las crueldades de toda clase, y sintiendo tener que hacer sufrir á los animales, somos de parecer que sería más calamitoso para el género humano é implicaría mayor crueldad, suspender ahora el desenvolvimiento de la ciencia experimental, apartándonos de las salvadoras rutas de la vivisección.

Una dama ilustre y de gran nombradía por su filantropía, nos decía hace poco tiempo que la ciencia volvíase inmoral, que las investigaciones verificadas en los pasados tiempos, muy contrarias á las actuales, tenían lugar sin que la crueldad informase sus actos. Le contestamos que la ciencia de Kepler y Newton, que ella consideraba moral, estudiaba las leyes de la naturaleza inorgánica, pero que los grandes progresos alcanzados por las ciencias modernas han tenido que dirigirse por las vías de la biología; esto es, la ciencia de la vida; y aunque esta moderna rama no pueda seguirse más que por medio de obligados sufrimientos, remunerarían en lo porvenir mil veces las penas causadas, puesto que su fin no es hacer sufrir á los animales, sino aliviar los sufrimientos de la humanidad, precaverlos y hasta en día no lejano tal vez impedirlos, imposibilitando los males que la afligen. Y decimos esto porque creímos que las investigaciones á que sin duda se refería la dama y cuya falta de moral lastimaba sus buenos sentimientos, eran de la naturaleza de esas que es necesario emprender para poseer el completo conocimiento de las enfermedades epidémicas y poder destruir los gérmenes malévolos, ese azote de la humanidad que flota sobre la superficie de la tierra.

Este punto es tan capital y de tal interés, que para hacerlo más palpable vamos á citar

un hecho: en 1850, dos notables investigadores, los señores Davaine y Bayer, observaron en la sangre de los animales muertos de esa enfermedad virulenta denominada *fiebre esplénica,* ciertos organismos microscópicos transparentes que presentaban una forma anillada; pero ni uno ni otro dieron importancia al hecho: en 1861, Pasteur publicó una memoria acerca la fermentación bútrica, en la cual describió los séres microscópicos que la provocaban; y después de haber leído dicha memoria, recordó Davaine el hecho anterior, pensando que la fiebre esplénica debía ser un caso de fermentación producido por los organismos que Rayer y él habían observado. Esa hipótesis ha sido demostrada perentoriamente por las investigaciones subsiguientes.

Otras observaciones importantísimas se han hecho acerca la fiebre titóidea por Pollender y Brauell. Más tarde el doctor Burdon Sanderson nos dió un resumen clarísimo del estado de nuestros conocimientos sobre la materia. Con respecto á la permanencia de esa enfermedad, se ha probado que existía de alguna manera en estado latente en las localidades donde una vez había aparecido. Esto parece probar que los organismos en forma de anillo no pueden constituir el contagio, porque su poder infectante se desvanece en algunas semanas. Pero otros hechos establecen una conexión íntima entre ellos y la enfermedad; de manera que su unión ha impulsado al doctor Sanderson á sentar la conclusión de que el contagio existe bajo dos formas distintas: una *fugitiva* y visible en el estados de anillitos transparentes, y otra permanente, pero *latente* é invisible.

En la época en que el doctor Sanderson escribía lo anteriormente citado, un médico alemán joven, llamado Koch (1), obligado por los deberes de su profesión á permanecer en una obscura aldea, había puesto manos á la obra, aplicando durante sus escasos momentos de libertad, un ingenioso método de investigación al estudio de la fiebre esplénica. Estudió las costumbres de los organismos en forma de anillito, y encontró que el humor acuoso del ojo servía admirablemente para la nutrición de los citados organismos. Virtió sobre dicho humor una gota extremadamente tenue de un líquido que contenía los anillitos expresados, luego colocó el todo bajo la acción del microscopio, lo caldeó convenientemente y observó las modificaciones que presentaría.

Durante las dos primeras horas ningún cambio se efectuó, pero luego después los anillitos principiaron á alargarse, alcanzando pronto veinte veces la longitud que al principio tenían. Algunas horas después formaban filamentos cien veces más largos que su primitiva longitud. Sucedía con frecuencia que un mismo filamento se replegaba varias veces en el campo del microscopio. Algunos formaban dos líneas paralelas; otros permanecían plegados, dejando ver las figuras más graciosas que pueda inventar la humana fantasía, y otros, por último, formaban nudos de tal manera complejos que era imposible seguirlos con la vista de uno á otro extremo.

Si la observación hubiera quedado reducida á esto, no hubiera sido más que un hecho interesante, sin duda, añadido aún á los conocimientos que teníamos de aquellos organismos, sin dejar por lo demás de ser de gran utilidad práctica. Pero Koch no dejó de estudiar dichos filamentos, y al cabo de poco tiempo vió aparecer entre ellos ciertos puntitos. Estos tomaron cada vez más incremento hasta mostrarse con marcada claridad, y hasta que por fin la longitud total del organismo se guarneció de pequeños cuerpos ovoides, que se desenvolvían á lo largo del anillito como guisantes en su vaina. Casi á la vez el pequeño tronco se deshizo en pedazos, hallándose reemplazado por una serie de simientes ó esporos.

Esas observaciones, que fueron confirmadas por completo por el célebre naturalista Cohn, de Breslau, son de la mayor importancia. Ellas esclarecen las dudas existentes acerca los estados visibles y latentes de la fiebre esplénica; pues Koch prueba que los esporos, que se deben distinguir perfectamente de los anillitos, constituyen el contagio de la fiebre en su estado permanente y mortal.

(1) Hoy universalmente conocido.

¿Cómo pudo afirmar esto? Hé aquí la contestación: No tenía sino un medio de ensayar la actividad del contagio, que era la inoculación en los animales vivos, y tuvo que apelar á él. Ensayó aplicándolo á los conejos de indias y á los vulgares de nuestros bosques y caseros, pero principalmente á los ratones: inyectándolos con sangre fresca de un animal que sufría la fiebre esplénica, les hizo morir de la misma enfermedad veinte ó treinta horas después de la inoculación. Quiso luego saber de que manera el contagio mantenía su vitalidad. Desecando la sangre que contenía organismos en forma de anillitos, en la cual todavía los esporos no habían aparecido, halló que el contagio existía bajo la forma que el doctor Sanderson denomina fugitiva. Conserva su poder de infección lo más durante cinco semanas. Desecó luego después sangre que contenía esporos muy desarrollados, sometiéndola á varios experimentos. La redujo, por ejemplo, al estado de polvo, el cual mojó, luego la desecó de nuevo, la colocó durante un tiempo indefinido, en medio de materias en putrefacción, sometiéndola, por último, á numerosos ensayos.

Después de haber tratado de semejante manera la sangre cargada de esporos durante cuatro años consecutivos, inoculó cierto número de ratones, hallando ser su acción tan fatal como la de la sangre fresca que sale de las venas de un animal atacado de fiebre esplénica. Ni uno solo quedó con vida después de la inyección de este funesto contagio. Millones de esporos se desarrollan de esta manera en el cuerpo de todos los animales que mueren de la fiebre esplénica, y cada uno de esos esporos puede producir la enfermedad.

El nombre de ese formidable parásito es el de *bacilus anthracis* (1).

Es evidente que el primer paso en la supresión del contagio es un exacto conocimiento de su naturaleza; y las investigaciones de Koch nos permitirán combatir la fiebre esplénica, de la misma manera que los trabajos de Pasteur nos han permitido ya suprimir la *pebrina* (2).

Algunos guarismos nos harán comprender mejor la importancia de ese resultado: en el distrito de Novgorod (Rusia) solamente, entre los años de 1867 á 1870 inclusives, se contaron 56,000 casos de muerte de fiebre esplénica, entre caballos, vacas y carneros. Pero los desastres de la enfermedad no pararon ahí, puesto que al propio tiempo atacó á las personas, habiendo alcanzado las defunciones por contagio, en el propio distrito, la suma de 528.

La descripción de la fiebre nos ayudará á formular juicio exacto sobre el punto que vamos á someter á la consideración de los lectores. Dice el doctor Burdon Sanderson que «cuando un animal rehusa tomar alimen»to y presenta señales generales de enferme»dad, principia á temblar y á sentir dolores »en los músculos del lomo; luego va debili»tándose y abatiéndose por grados. Al propio »tiempo la respiración es más rápida, pero »también más difícil, y su temperatura se ele»va de tres á cuatro grados más que la nor»mal; las convulsiones que afectan principal»mente los músculos del lomo y los riñones, »anuncian el decaimiento final, cuyo progre»so se marca por la pérdida de todo movi»miento del tronco ó de las extremidades, por »el descenso de temperatura y por las eva»cuaciones purulentas y sanguinolentas, y »parecidas deyecciones por narices y boca.»

Como hemos indicado, solamente en un

---

(1) Koch demostró que para producir sus efectos característicos el contagio de la fiebre esplénica, debe obrar sobre la sangre. El bazo de cualquier animal fuertemente atacado de esa enfermedad, puede ser impunemente comido por un ratón. Por otra parte, la enfermedad no puede comunicarse por inoculación á los perros, ni á las perdices ó gorriones: en la sangre de todos esos el bacilus anthracis cesa de obrar como fermento. Pasteur anunció, hace ya mucho tiempo, la propagación de los vibriones de la enfermedad de los gusanos de la seda llamada *consunción* por escisión y por esporos. Practicó también notables experimentos acerca la permanencia del contagio bajo esta última forma. Véanse *Estudios acerca la enfermedad de los gusanos de la seda*, págs. 168 y 256.

(2) Suponiendo que la inmunidad de los pájaros puede proceder del calor de su cuerpo, el cual destruiría los bacilos, Pasteur rebajó artificialmente su temperatura, les inoculó el virus y *murieron*. Elevó igualmente la temperatura de los conejillos de indias, después de la inoculación, y se *salvaron*. Es inútil insistir acerca la importancia de estos experimentos.

distrito de Rusia sucumbieron 528 habitantes entre hombres y mujeres, y 56,000 animales entre caballos, vacas y carneros, en un periodo de dos á tres años. ¿Cuál fué la proporción en toda Europa? Lo ignoramos: pero no hay duda que debió ser grandísima.

Vamos á someter á la consideración de nuestros lectores el punto á que nos referimos antes: ¿el conocimiento que nos revela la naturaleza de una enfermedad tan grave y al propio tiempo nos asegura su supresión, no es digno de toda nuestra atención y al propio tiempo no es inapreciable? Es de todo punto necesario, pues, que tanto las corporaciones científicas como la sociedad en general, tenga conocimiento de estos hechos, que sepan de lo que se trata y que, por lo tanto, ayuden á la ciencia, ya que no convenciendo por lo menos impidiendo que esas personas que quisieran restringir los experimentos científicos y hasta suprimirlos, tachen las investigaciones fisiológicas modernas de crueles y antirreligiosas.

En el actual momento histórico se ha despertado un exceso de celo por Dios, á expensas de la ciencia, celo mal comprendido, falsa dirección idealista que ha creado el dictado de crueles, aplicado á los modernos investigadores y que multiplicando las sociedades *protectoras de los animales* ha extraviado la opinión pública, la cual conviene instruir cuanto antes, demostrándole evidentemente de lo que se trata y haciéndole ver que ese epíteto echado á volar irreflexiblemente, debiera cambiarse más bien por el de *Caridad,* y las sociedades, siguiendo el espíritu cristiano, por *protectoras de la humanidad,* á cuyo único y exclusivo bien se dirige la ciencia.

Y ahora permítasenos echar una ojeada retrospectiva sobre el asunto que venimos tratando, puesto que debemos sacar de él todo el partido que podamos, y ensayar de poner en evidencia su manifiesto provecho.

Durante más de dos mil años la atracción de los cuerpos ligeros por el ámbar, constituyó la suma de conocimientos humanos acerca la electricidad, y durante más de dos mil años también se sirvieron de la fermentación sin conocer su causa. En la ciencia, á menudo un descubrimiento procede de otro con el cual parece no esté relacionado en manera alguna. Así fué que antes que hubiera podido comprenderse la fermentación, fué necesario que se inventase el microscopio, sin el cual jamás se hubiera llegado á comprender aquella, y aún fué necesario más, que para ello alcanzara este último un grado considerable de perfección. Hagámonos cargo de la gradación de los conocimientos científicos:

En 1685 Seuwenhoeck descubre que la levadura se halla constituída por globulillos en suspensión; le fué imposible reconocer que eran organismos vivientes: esto fué probado en 1835 por Cagniard de Latour y Schwann. Luego se presentó la cuestión del orígen de esos organismos, y con respecto á esto la *memoria* de Pasteur, publicada en los *Anales de Química*, inaugura una nueva era. Todos los trabajos ulteriores de Pasteur se han basado en el propio principio, desarrollado en su notable *memoria*.

Los vinos franceses habían sufrido un deterioro considerable. Volvíanse agrios ó amargos durante la exportación. El comercio se resintió con ello, experimentando los traficantes y propietarios considerables pérdidas. Pues todas esas *enfermedades* procedían de un organismo. Pasteur determinó la temperatura contraria á los fermentos, y demostró que la del vino era muy baja para que los organismos existentes fuesen destruídos. Calentando, pues, el líquido á 50° centígrados le hizo inalterable y proporcionó con ello á su país un beneficio de muchos millones. Se ocupó inmediatamente del vinagre,—vino ágrio, vino ácido,—que demostró ser el producto de la fermentación ocasionada por una pequeña alga denominada *micoderma aceti*. La *torula* convierte el zumo de la uva en alcohol, y la *micoderma aceti* transforma á éste en vinagre. Dicho artículo había dado lugar también á grandes pérdidas, por los contratiempos que proporcionaba su imperfección. Durante el curso de su preparación se volvía muchas veces inservible ó impropio para el uso á causa de su putrefacción. Desde mucho tiempo atrás se sabía que bastaba la simple exposición al aire para producir ese fenómeno.

Pasteur estudió todos esos cambios, los re-

lacionó con sus causas vivas y demostró que la *salud* permanente del vinagre dependía de la destrucción de la vida que en el mismo se desarrollaba. Del estudio de ésta pasó al de otra *enfermedad* epidémica que había arruinado la industria de la seda francesa. Este azote, que había recibido el nombre de *pebrina,* era producido por un parásito que posesionándose del tubo digestivo del gusano de seda se esparcía á través del cuerpo, invadiendo, por último el saco de la seda. El gusano ejecutaba automáticamente el acto de hilar, pero no hilaba nada, porque carecía de la materia que su invasor había utilizado para sí.

El renombrado químico francés estudió á ese parásito año tras año, y combinando los hechos con la lógica del razonamiento, descubrió el estadío (periodo de enfermedad) preciso del desarrollo durante el cual podría atajarse éste y destruir la causa de la *enfermedad*. El consagrarse á estas investigaciones costó caro á Pasteur; devolvió á la Francia la industria de la seda, salvó de la ruina á muchos compatriotas suyos, pero esos trabajos le dejaron un lado del cuerpo inutilizado por completo.

A pesar de todo, el incansable investigador dedicó seguidamente su atención á la cerveza; sus trabajos, condensados en su obra *Estudios acerca la cerveza,* dan un medio de volver este líquido inalterable: el método descrito en dicho libro no es tan sencillo como los aplicados para el vino y vinagre, pero los principios sobre que reposa tendrán indudablemente en el porvenir provechosas aplicaciones.

Existen, además, otras reflexiones relacionadas con el asunto que nos ocupa, que aún cuando evitáramos tratar de ellas, se presentarían *expontáneamente* á la imaginación de los lectores. Nos referimos á lo que hemos indicado acerca el polvillo en suspensión en el aire, los medios de hacerle visible y la inmunidad completa de la putrefacción cuando se encuentra el aire privado de los citados gérmenes ó las infusiones están convenientemente hervidas. Consideremos los males sin cuento que esas partículas, llevadas donde quiera que sea por el viento, han causado á la humanidad en los tiempos históricos y prehistóricos; tengamos en cuenta los distintos casos de muerte que habrán tenido lugar en los hospitales á causa de la putrefacción de las heridas, lo mismo en nuestros tiempos que antes de la fundación de estos establecimientos, en las casas particulares donde los haya habido; pensemos en la carnicería que hasta el presente ha habido en los campos de batalla, después de la cual se han desarrollado estos bacterios más mortales que el mismo combate.

Añadamos á eso, además, que en las épocas de epidemia las materias flotantes mezcladas con los gérmenes que producen la enfermedad pueden sembrar la muerte en naciones y continentes enteros. Comparémoslo todo en conjunto y veremos que todos los horrores de las guerras, diez veces multiplicados, no son nada en comparación con los desastres sin cuento causados por el polvo atmosférico.

Esa destructora acción tiene lugar diariamente y lo ha tenido durante siglos enteros, sin que jamás le haya ocurrido á nadie librarnos de ella. Hemos sido atacados durante largo espacio de tiempo por invisibles enemigos, heridos en impenetrables emboscadas, y solamente hoy es cuando á la luz de la ciencia trabajamos para desembarazarnos de esa mortal dominación.

Hechos como los hasta aquí descritos sugerieron á mi entendimiento la idea de que las leyes que rigen el universo son completamente diferentes de las que en nuestra juventud nos han enseñado, que la infinita y bienhechora madre Naturaleza, en la que vivimos y en la cual nos movemos, de la que forma parte nuestro sér y en cuyo seno se disgregará nuestro cuerpo, puede sernos propicia por medios completamente distintos de los que en otro tiempo nos han sido recomendados. El primero de estos medios es la *ciencia* y el segundo la *acción* dirigida é iluminada por aquélla. Ya ante nuestros ojos se ha presentado su aurora, que va perfeccionándose de día en día. En cuanto á la acción resultado del estudio, tiene su orígen en la naturaleza moral del hombre, en su deseo de bienestar, en el sentimiento de su deber y en su anhelo de hacer el bien á sus semejantes,

aliviando sus sufrimientos: «Cuantas veces, »dice el doctor William Budd en su célebre »obra sobre la fiebre tifóidea, ¡cuántas veces »he visto en el único y estrecho cuarto del »pobre trabajador, al padre en su lecho mor- »tuorio, á la madre loca de dolor, delirando »sobre aquellos mortales despojos, y á los »niños, desamparados, estupefactos ante una »desgracia tan inmensa, que en su inocencia »aún no aciertan á comprender bien, cuando »más, auxiliados por algunos vecinos carita- »tivos que muchas veces pagan con la vida »su abnegación!»

Sin embargo, mirando atrás, echando rápida ojeada á lo pasado, esperamos confiadamente ver en lo porvenir triunfar el arte médico de todas esas dolorosas miserias. Una vez bien conocida la causa de la calamidad, no solamente el médico, sino también la sociedad, cuya inteligente cooperación será necesaria, para el mejor éxito, trabajarán afanosamente para alcanzar una victoria que no será más que una cuestión de tiempo. Gozamos ya una anticipada satisfacción con la triunfante marcha de la cirujía tal como se practica en nuestros días.

CAPÍTULO V

LA GENERACIÓN ESPONTÁNEA (1)

A unos diez minutos aproximadamente de un *chalet* que Tyndall hizo construir poco tiempo há en los Alpes, existe un pequeño lago alimentado por las nieves de aquellas altas montañas, cuyas aguas recibe en la época del deshielo. A principios de verano no es posible descubrir en dicho lago ni el más ligero rastro de vida, pero á fines de Julio ó primeros de Agosto invariablemente, un enjambre de organismos en forma de renacuajo se hace visible, buscando los rayos del sol á lo largo de las orillas del lago y sumergiéndose en sus profundidades, con una rapidez asombrosa, al menor asomo de peligro.

El origen de esa multitud periódica de seres vivientes no está claramente definido; de modo que durante muchos años, Tyndall que no había visto nunca ni una rana, ni la más pequeña aglomeración de huevos fecundados por la freza de aquellos animales, sino hubiera sido tan contrario de la generacion espontánea, hubiera podido creer que eran debidos á ella y por ende hallado natural la conclusión de Mathiole, que pretende que dichos renacuajos han sido engendrados por el limo del lago por medio de la acción vivificante de los rayos solares.

A falta de los datos que sólo los experimentos pueden suministrar, la generación espontánea de seres tan elevados como las ranas, ha sido durante mucho tiempo considerada como un hecho real. En este caso, como en otros muchos parecidos, el espíritu dominante de Aristóteles impuso semejante noción á todo el mundo. Y de tal manera se arraigaron tales creencias, que hasta veinte siglos después de Aristóteles ciertas personas no tuvieron el menor escrúpulo en creer posibles ciertos casos de generación expontánea que serían en el día tachados de absurdos por los mismos partidarios de semejante doctrina. La mayor parte de crustáceos fueron considerados como si no hubiesen tenido precursor. Se llegó á suponer que las anguilas nacían espontáneamente en los aluviones

(1) *The Nineteenth Century*, enero 1878.

grasientos del Nilo. Las larvas se consideraron como productos expontáneos de las hojas sobre las cuales viven, mientras que los insectos alados, las serpientes, las ratas y ratones eran suceptibles de ser engendrados sin la menor intervención sexual.

El orígen más fecundo é incontrovertible de esa vida sin predecesores era la carne en putrefacción; faltos de todos los conocimientos que actualmente poseemos, la conclusión más natural que se sacaba de semejante observación era que dicha carne estaba dotada de un poder de generación expontánea. Recuerdo que cuando niño, al ver un día un trozo de vaca en estado de putrefacción, sobre la cual pululaban las larvas, lo primero que se me ocurrió fué esto mismo, esto es, que dichas larvas las había engendrado la propia carne. Ignoraba entonces todo cuanto podía oponerse á dicha conclusión, y por de pronto se me presentó como irrefutable. La infancia del individuo reproduce la de la raza y esa creencia que acabamos de mencionar recorre el mundo entero hace más de dos mil años.

Dos físicos italianos, el célebre Francesco Redi, médico de los grandes duques de Toscana Fernando II y Cosme III, y un miembro de la Academia del Cincento, se propusieron examinar ese caso en 1668. Había llamado su atención las larvas que se presentaban en la carne putrefacta y quisieron indagar la causa, no contentándose con la simple reflexión, ni con las conclusiones teóricas sobre las cuales se apoyaban sus antecesores, sino que examinaron la carne desde el momento que completamente fresca se cortó de la res, hasta su completo estado de putrefacción: observaron que invariablemente acudían las moscas sobre la carne, revoloteando hasta concluir por pararse encima; al ver que esto se repetía con frecuencia, ó por mejor decir, siempre, dedujeron que dichas larvas podrían muy bien ser la progenitura semidesarrollada de las moscas.

La inducción precede al experimento por el cual debe ser aquélla confirmada. Redi sabía esto y obró en consecuencia. Colocando la carne fresca en un vaso que cubrió con papel, observó que aún cuando dicha carne alcanzó el estado de putrefacción como siempre, no contenía larvas, mientras que expuesto al aire un trozo de la misma, un enjambre de organismos pululaba inmediatamente por su superficie. A la tapadera de papel substituyó un trozo de lienzo fino, por cuyos claros ó agujerillos pudiera trascender el infecto olor de la putrefacción. Las moscas, atraídas por el mal olor, no tardaron á posarse sobre dicho lienzo, en el cual depositaron sus huevos, como hubieran hecho sobre la carne, pero siendo las mallas demasiado pequeñas para que aquéllos pudieran penetrar en ésta, quedó exenta de larvas; en cambio el desarrollo tuvo lugar sobre el citado lienzo.

Gracias á una serie de experimentos parecidos, Redi pudo destruir la general creencia de su época, acerca la generación expontánea de las larvas en la carne, y con ésta otras muchas. La lucha contra la ignorancia se continuó por Vallisneri, Schwansmerdam y Reaumur, que lograron desterrar la idea de la generación expontánea de la mente de sus contemporáneos, destruyendo para siempre esa noción por lo que respecta á los séres de organización tan elevada.

Pero el descubrimiento y subsiguiente perfeccionamiento del microscopio, á la vez que daba el golpe mortal á cuanto se había imaginado y escrito acerca la generación expontánea, ponía de manifiesto un nuevo mundo, el de lo infinitamente pequeño, evidenciaba la existencia de organismos tan microscópicos que se aproximaban de tal manera, ó por lo menos así se creyó, á los átomos de la materia, que pudo hacer creer que el paso de unos á otros era fácil, era posible. Diversas infusiones de animales y vegetales se expusieron al experimento bajo la acción del microscopio, encontrándose llenos de séres que era imposible ver á simple vista, pero que eran perfectamente visibles con el citado aparato. Relacionándolos con su aparente orígen, dichos organismos fueron denominados *infusorios*. Las aguas estancadas estaban cuajadas de ellos, y la dificultad de poder asignarles un orígen cualquiera condujo á hacer revivir la antigua idea ya caducada, condujo directamente á la antigua noción de la heterogénesis ó generación expontánea.

Pero el mundo científico se dividió pronto

en dos campos hostiles, cuyos principales campeones indicaremos acto seguido. Por una parte Bufón y Needhom, el primero enunciando sus *moléculas orgánicas*, y el segundo afirmando la existencia de una *fuerza vegetativa* especial que conduce á que las moléculas formen séres vivientes. Por otra parte, tene- el célebre abate Lázaro Spallanzani, que en 1777 publicó un folleto combatiendo lo afirmado por Needhom en 1748, fundándose en una serie de experimentos incontrovertibles.

Dichos experimentos fueron obtenidos por un método tan preciso, que echaron á rodar por completo las convicciones basadas en los trabajos de su predecesor ó antagonista. Hé aquí la manera: cargando cierto número de frascos con infusiones orgánicas el abate cerró el cuello de ellos por medio del soplete, los sometió en tal estado á la acción del agua hirviendo, y los expuso, por fin, á temperaturas favorables al desarrollo de la vida. Las infusiones permanecieron inalterables durante meses enteros, ni el más leve rastro de vida pudo comprobarse antes de que se les pusiera al aire libre, en cuyo estado *apareció incontinenti*.

Sin embargo, debemos advertir que el buen resultado obtenido por Spallanzani en sus experimentos, debióse totalmente al sitio en que tuvieron lugar. El aire que le rodeaba debía estar libre de gérmenes infusorios, pues, de lo contrario, el método empleado hubiera sido ineficaz, como demostró más tarde Wyman perfectamente al hacerse cargo de los citados experimentos y método empleado en ellos. Pero de todos modos la refutación de la doctrina de la generación expontánea basada en dicha prueba no es menos válida. Poco importa que otros, repitiendo el propio experimento, hayan obtenido resultados contradictorios, esto no debilita la conclusión que se desprende de aquellos: antes por el contrario, en cierto modo tales divergencias sirven para apoyar la refutación: porque si consideramos á dos observadores igualmente hábiles y cuidadosos, practicando un experimento idéntico, en diferente local, sobre unas mismas infusiones, y sujetándose á un mismo método, si uno ve aparecer la vida y el otro no, bien comprobada la carencia de ésta, prueba evidentemente que la otra se debe á cualquier causa extraña ó fortuita.

Los frascos herméticamente cerrados de Spallanzani sólo contenían una cantidad insignificante de aire, y como el oxígeno es necesario para la vida, se atribuyó la carencia de ésta á la rarefacción de aquel gas que esterilizó las infusiones. Para disipar toda clase de dudas con respecto á ésto Schulze en 1836 llenó hasta la mitad de un frasco con agua destilada, en la cual se habían incorporado materias animales y vegetales. Primero hizo hervir su infusión, para destruir todo rastro de vida que hubiese podido haber, luego hizo filtrar todos los días en dicho frasco el aire que había pasado á través de una serie de bolas que contenían ácido sulfúrico concentrado, con lo cual *debían* destruirse cuantos gérmenes en suspensión pudiera haber. Desde el mes de Mayo al de Agosto no se observó señal alguna de vida infusoria.

En dicho caso también el buen resultado obtenido por Schulze fué debido á que practicó el citado experimento en un aire relativamente puro, pero aún con tales condiciones fué expuesto. Los gérmenes pasan sin que tan siquiera se mojen, ni menos alteren á través del ácido sulfúrico concentrado, á menos que no se tomen las precauciones necesarias para retenerlos. Tyndall quiso, repetidas veces y en distintas épocas, comprobar el propio experimento y nunca le dió buen resultado. A otros varios experimentadores les ha sucedido lo mismo.

El aire atraviesa por las bolas en forma de burbujillas, y por lo tanto, para que la acción de aquel ácido sea eficaz, debe verificarse lentamente la filtración, á fin de que todas las materias en suspensión que pudiera contener el aire y pudiese haber en el interior de las bolas pudieran ponerse en contacto con el líquido envolvente. Pero tomando semejantes precauciones, *el agua produce tan buen efecto como el ácido sulfúrico*. Por medio de una bomba de aire y en una atmósfera extremadamente infecciosa se puede conducir el aire, sin interrupción, primero á las bolas que contengan agua y luego á los vasos que encierren infusiones orgánicas, y todo esto sin

el menor átomo de vida aparente. El agua no destruye los gérmenes pero los intercepta, y así se evita la olejeción que pudiera hacerse de haber modificado el estado del aire por su contacto con una substancia fuertemente corrosiva.

El corto artículo de Schulze, publicado en los *poggendorf's annalen* en 1836, fué seguido en 1837 de otra memoria de Schwann, igualmente breve, pero de gran interés. Como hemos visto, Redi siguió las evoluciones de la larva de la carne en putrefacción, hasta el huevo de la mosca. Pero no pudo darse cuenta de la misma putrefacción en sí propia. Carecía de instrumentos que pudieran hacerle comprender que ahí se trataba de un fenómeno en conexión íntima con el desarrollo de la vida, que es lo que probó Schwann en la memoria que acabamos de citar. Este colocó la carne en una botella que contenía una tercera parte de su cabida de agua, esterilizó el todo por medio de la ebullición, é introdujo aire calcinado. Durante todo este tiempo, ni aparecieron enmohecimientos, ni putrefacción, ni infusorios; la carne se conservó inalterable y el líquido quedó tan claro como el primer día; Schwann varió entonces sus experimentos, pero el resultado fué el mismo constantemente. En vista de ello concluyó que la putrefacción se debe á la descomposición de la materia orgánica, por consecuencia de la multiplicación de los organismos que la pueblan.

No procediendo del aire dichos organismos, sino de algo contenido en él, puede ese algo ser destruído por una temperatura suficientemente elevada. Jamás ha habido adversario más decidido de la generación expontánea que Schwann, por más que se haya intentado, hace próximamente dos años, envolverle de un modo particular, haciéndole figurar entre sus partidarios.

Los caracteres físicos del agente que produce la putrefacción han sido, además, revelados por Helmholtz en 1843. Por medio de una membrana separó un líquido susceptible de putrefacción esterilizado, de otro en verdadero estado de putrefacción. La infusión esterilizada se conservó perfectamente bien. De lo cual sacó la consecuencia que la causa de la putrefacción no reside en el mismo líquido que podría atravesar la membrana por difusión, sino en algo que se hallaba detenido por el diafragma.

En 1854 Schrœder y Van-Dush se aventuraron á practicar experimentos que fueron proseguidos más tarde solamente por el primero. Estos sabios experimentadores emplearon tapones de nata para filtrar el aire puesto en contacto con sus infusiones. La presencia de aire así preparado dejó, en el mayor número de casos, la solución inalterable cuando se tuvo la precaución de hervirla precedentemente. Sólo la leche formó una notable excepción de la regla general: se putrificó después de la ebullición, aunque el aire con el cual fué puesto en contacto estuviese cuidadosamente filtrado. Las investigaciones de Schrœder duraron hasta el año 1859.

En esta época se publicó un libro que parecía iba á echar por el suelo todos los hechos establecidos por los investigadores precedentes. Su título era *La Heterogenia* y su autor M. F. A. Puchet, director del Museo de historia natural de Rouen. Sabio ardiente y laborioso, lleno de ideas no solamente científicas, sino metafísicas, desarrolló cuanta energía atesoraba su espíritu en la práctica de los experimentos é investigaciones. Jamás experimentador alguno ha hecho uso de una crítica más severa que éste, de un estudio concienzudo ante la multitud de encontrados fenómenos, nadie ha puesto más cuidado en la preparación de los experimentos, y mucho más en la ejecución de los mismos, como este distinguido metafísico, ni comprobado mejor los resultados por medio de variaciones hábiles, de las condiciones en que tenían lugar y por las repelaciones indefinidas de operaciones, hasta conseguir que dieran un resultado preciso, terminante é invariable.

Un hombre del temperamento de Puchet, al quererse ocupar de semejante asunto, era un enemigo formidable, peligroso, tanto más cuanto que se hacía cargo del mismo con ideas teóricas preconcebidas y sumamente fijadas en su espíritu con firmeza inalterable; como él mismo lo dá á conocer en el prefacio de su obra diciendo: «Cuando después de »largas meditaciones comprendí la evidencia

»de la generación expontánea, ví que era uno »de tantos medios empleados por la Natura- »leza para la reproducción de los séres, deci- »díme á tratar de descubrir el procedimiento »por el cual se podría llegar á hacer eviden- »tes los fenómenos que lo determinan.»

Casi no es necesario decir que con tales predisposiciones era conveniente poner un poderoso freno á sus convicciones para ser imparcial. Puchet repitió los experimentos de Schulze y de Schwann, obteniendo resultados diametralmente opuestos á los de éstos. Aglomeró experimento tras experimento, argumento tras argumento, intercalando la lógica del hombre científico con el sarcasmo del abogado, y al hacerse cargo de las aglomeraciones necesarias para producir los resultados observados, ridiculizó la hipótesis de los gérmenes atmosféricos. Este fué uno de los puntos en que hizo más hincapié: «Si de los proto-organismos, dice, que vemos »pulular por todas y en todas partes, estu- »viesen diseminados por la atmósfera, en la »proporción matemática indispensable para »ello, obscurecerían el aire, puesto que »habrían de estas contenidos en él, en apre- »tadas masas, mucho más compactas que los »glóbulos de agua que forman nuestras den- »sas nubes; sin que sea esto exageración »de ninguna especie.» Y volviendo más tarde al propio asunto, añade: «El aire en »que vivimos tendría casi *la densidad del hierro*» (!).

A menudo se produce un contagio violento á causa de la imperturbabilidad ó atrevimiento con que se han tratado ciertos asuntos por reconocidos sabios, sobre todo en los espíritus que se dejan llevar por la autoridad de un nombre más bien que por razones científicas. Pero á buen seguro que si Puchet hubiese sabido que el azul etéreo del cielo está formado por partículas en suspensión, á través de las cuales brilla libremente el sol, no hubiera osado emplear semejante argumentación que falsea por la base de una manera tan marcada, que parece imposible que haya podido fortificar su convicción preconcebida y la sucesiva investigación, conducirle á creer la demostración incontrovertible.

Nosotros no podemos poner en duda su habilidad como observador, pero sus trabajos necesitan un experimentador disciplinado, esto es, no sólo un hombre capaz de observar bien las cosas de la naturaleza, sino de obligarlas á presentarse tal cual sean y en condiciones previstas por el mismo experimentador. En este caso, Puchet careció de la disciplina inndispensable. Sin embargo, la autoridad de sus afirmaciones levantó durante algún tiempo serias dudas acerca la exactitud de los experimentos verificados por los anteriores investigadores. El asunto se hacía cada vez más difícil y la solución bien definido se juzgaba tan imposible, que cuando Pasteur se decidió á ocuparse de ello, sus amigos Biot y Dumas demostraron su disgusto y le exhortaron sériamente á utilizar en algo más provechoso el tiempo que iba á derrochar en semejantes experimentos inútiles (1).

Habiendo verificado sus primeros estudios como químico y habiendo trabajado especialmente sobre la cuestión de la fermentación, Pasteur puso manos á la obra en condiciones excepcionalmente favorables. Su perseverancia y su experiencia ayudaron de una manera poderosa y dieron más perfeccionamiento si cabe á sus aptitudes naturales. En 1862 publicó una memoria: *«acerca de los corpúsculos organizados existentes en la atmósfera»*, memoria que será considerada siempre como una obra clásica.

Por medio de ingeniosísimos procedimientos Pasteur reunió las partículas flotantes en aire de su laboratorio de la calle de Ulm, y las sometió á un examen microscópico. Halló que muchas de ellas eran cuerpos organizados. Depositando esa especie de simiente en las infusiones esterilizadas, obtuvo abundante cosecha de organismos microscópicos. Echando mano á los métodos más perfeccionados, repitió los experimentos de Schwann que habían sido comprobados por Pouchet, Mau-

(1) «No aconsejaré jamás á nadie, decía Dumas á su »discípulo ya célebre, que se ocupe de semejante asunto, »perdiendo un tiempo precioso.» *Anales de química y física*, 1862, vol. LXIV, pág. 22. Desde entonces acá el ilustre secretario perpétuo de la Academia de Ciencias, debe haber tenido frecuentes ocasiones de modificar su opinión y poderosas razones para reformar su consejo.

tegazza, Joly y Musset. Adujo igualmente nuevas pruebas comprobantes de los experimentos verificados por Schrœder y Van Dush, y demostró que la causa que comunicaba la vida á dichas infusiones, no estaba esparcida por la atmósfera de una manera uniforme, sino que había intersticios, digámoslo así, en el aire, privados del poder de engendrar la vida.

Pasteur hizo un viaje al mar glacial con este objeto; cerca de Montauvert quebró los extremos de varios frascos que, herméticamente cerrados, contenían infusiones orgánicas. De veinte frascos puestos allí en contacto con el aire de la playa solamente uno dió señales de vida, mientras que de otros veinte iguales abiertos y puestos en contacto con el aire en alta mar, se vieron pronto hormiguear los organismos en ocho. Abrió también más tarde otros frascos en los sótanos del Observatorio de París, y halló que el aire tranquilo de ellos no estaba dotado del poder necesario para la producción de aquella *generación expontánea*.

Verificados estos experimentos con rigurosa exactitud y precisión, llevan la evidencia al ánimo de todo hombre instruído y mucho más cuando van acompañados de una lógica igualmente rigurosa. Nos dan el convencimiento de que por mucho que se descienda en la escala de los séres, siempre toda vida procede de otra anterior.

La posición de Pasteur ante la ciencia fué fortificada por la parte práctica que supo imprimir á sus experimentos en tiempo oportuno. De resultas de ello fué como pudo aplicar sus conocimientos á la conservación del vino y de la cerveza, á la fabricación del vinagre, al exterminio de la calamidad que había causado tanto daño á la industria de la seda en Francia, como también al examen de otras terribles enfermedades que atacan á los animales más elevados, incluso el hombre. La parte que le corresponde en los perfeccionamientos que el profesor Lister ha introducido en la cirugía, se halla expresada en una carta inserta en sus *Estudios acerca la cerveza* (1).

(1) Página 43.

El citado profesor Lister le da las gracias por haberle hecho comprender el único principio que puede conducir al sistema antiséptico á un brillante resultado.

Las críticas relativas á los defectos de razonamiento, á las cuales nos hemos acostumbrado recientemente, sea cual fuere la luz de la autoridad que las ilumine, no proyectan ninguna sombra sobre Pasteur.

Redi, como hemos visto, probó que las larvas de la carne en putrefacción proceden de los huevos depositados en ella por las moscas; Schwann demostró que la putrefacción en sí misma era concomitante con las formas vivas, muy inferiores á las observadas por Redi. La opinión de Tyndall acerca del particular ha sido estudiada por el profesor Cohn, de Breslau, que dice acerca de ella lo siguiente: «Ninguna putrefacción puede »tener lugar en una substancia azoada, ha»biendo sido precedentemente destruídos los »bacterios é impidiendo la introducción de »nuevos. La putrefacción principia así que »accidental ó intencionadamente penetran los »bacterios en la substancia, sea cual fuere su »número. Progresa en proporción directa de »su multiplicación, se paraliza así que mani»fiestan una débil vitalidad, y termina así que »una causa cualquiera impide su desarrollo ó »los destruye. Todo medio bactericida es, por »consiguiente, antiséptico y desinfectante.»

Dichos organismos, obrando sobre las heridas y abscesos, han sido causa, en otro tiempo, que nuestros hospitales se convirtieran con frecuencia en carnicerías, y su destrucción por el sistema antiséptico es la que hoy permite al cirujano practicar ciertas operaciones que hace algunos años ni siquiera se hubiera atrevido á intentar. El beneficio obtenido es inmenso, tanto para el cirujano como para el paciente. En vez de la ansiedad en que se estaba de que la operación mejor practicada podría resultar ineficaz por culpa de los invisibles organismos que acaso contenía en suspensión el aire del hospital, el cirujano está hoy seguro de ella, puesto que posee medios suficientes para aniquilar la dañosa acción que dichas partículas en suspensión pudieran oponerle.

Pero exteñdiéndose la acción del contagio

viviente más allá del dominio de la cirugía, el poder de reproducción y multiplicación indefinida que caracteriza á dichos séres, y que son causa de la extensión que pueda tomar un *contagio*, ha dado importancia y consistencia á una creencia que desde hace ya mucho tiempo se hizo evidente al espíritu penetrante de algunos observadores, y es que las enfermedades epidémicas son el resultado de semejante vida parasitaria.

Principiamos á apercibirnos que en el vasto laboratorio de la naturaleza las peores enfermedades ó aquellas que son más funestas para la vida animal, y los cambios que se presentan en las materias orgánicas muertas están íntimamente ligadas con la causa que los produce (1)».

Según esa opinión que, como hemos indicado, adquiere cada día más prosélitos, una enfermedad contagiosa puede considerarse como un conflicto que se eleve entre la persona atacada y un organismo específico que se multiplica á expensas del enfermo, apropiándose su aire y su humedad, destruyendo sus tejidos ó envenenándole por medio de las descomposiciones inherentes á su desenvolvimiento.

Durante el periodo de los diez años que median desde el 1859 al 1869 las investigaciones acerca el calor radiante en sus relaciones con el estado gaseoso de la materia, llamaron poderosamente la atención de Tyndall, que dedicó á ellas todo el tiempo que podía disponer. Para dar cima á sus experimentos tuvo que purificar antes el aire de dichas partículas en suspensión, y al verificarlo notó con gran sorpresa que pasaban libremente al través de los álcalis, ácidos, alcoholes y éteres.

El medio más á propósito para descubrir á simple vista las materias flotantes á la vez en el aire y en el agua, halló ser el rayo de luz proyectándose en una cámara obscura que por razón de esta misma obscuridad permite á la vista, impresionándola más sensiblemente, darse cuenta de aquellas. Dicho medio fué por otra parte reconocido como más eficaz todavía que el uso del microscopio. Tyndall examinó, por medio de semejante rayo luminoso, el aire filtrado á través de la nata, aire en completo reposo, que permitía fuera depositándose paulatinamente el polvillo que contenía, aire calcinado y filtrado por las células más profundas del pulmón humano.

En todos los experimentos se observó la más perfecta concordancia con los verificados por Schwann, Schrœder, Pasteur y Lister acerca la generación expontánea. El aire que ellos habían hallado impotente para engendrar la vida, se presentaba en el rayo luminoso ópticamente puro y por lo tanto privado de gérmenes. Habiendo estudiado Tyndall dicho asunto desde el punto de vista de la reflexión y de los experimentos, quiso llamar hacia ello la atención de los miembros del instituto real, á los cuales dió una sesión en la noche del 31 de Enero de 1870, que era un viernes. Dos ó tres meses más tarde procuró también llamar la del público por medio de una carta que publicó el periódico *El Times*. Tales fueron sus primeros pasos en semejante asunto.

Dicha carta sirvió de estímulo al doctor Bastian para expresar, por la primera vez, sus ideas ante el público; ponderó en gran manera el sistema de Tyndall, así como otros habían ponderado el de Pasteur, dijo que dicho asunto *importaba tanto al biologista como al médico*. Manifestó su admiración hacia la manera de raciocinar del propio Tyndall, asegurando que antes que lo ejecutado por éste pudiera anularse, muchas otras teorías lo serían con más fundamente. Con mucha menos experiencia que Pouchet para guía ó norma de sus trabajos, el heterogenista inglés era mucho más atrevido y audaz en sus conclusiones.

Bastian aseguró haber obtenido con infusiones orgánicas los resultados de su célebre antecesor, pero que había hecho mucho más, había hecho pasar los albucos y moléculas de los líquidos inorgánicos, por medio de sus manipulaciones, al estado de *compuestos químicos complexos* que honramos concediéndoles el título de *organismos vivien-*

(1) Report of the medical Officer to the Pricy Courneil. 1874, pág. 5.

tes (1). Ante un público ilustrado, al cual interesan mucho por lo regular esta clase de asuntos, y también ante cierto número de miembros del cuerpo médico, Bastian supo hábilmente retrotraer la cuestión al estado de incertidumbre en que se hallaba después de la publicación del volumen de Pouchet en 1859.

Fuera de desear que dicha incertidumbre cesara para siempre en todos los ánimos y sobre todo en el de los médicos. Hé aquí porque nos hemos propuesto discutir completamente al presente las ideas emitidas, contrarias á nuestra opinión, que es la de Tyndall, Pasteur y otros, por algunos representantes muy distinguidos de la ciencia médica. Sería fácil nombrarlos, pero debemos separar de este asunto toda idea de personalidad que pudiera herir susceptibilidades más ó menos intolerantes. Por lo tanto, designaremos sencillamente al adversario con la calificación de *nuestro amigo*, y trataremos de conducir la discusión de manera que todo el mundo pueda leernos y comprendernos.

Principiemos por el principio: suplicamos á *nuestro amigo* que tenga la bondad de acompañarnos al laboratorio de la Real Institución, donde le colocaremos ante un plato cubierto con delgados trozos de nabo uniformemente cubiertos con agua destilada mantenida á una temperatura de 120° Fahr. Después de haber dejado digerir el nabo durante cuatro ó cinco horas, separamos el líquido, lo sometemos á la ebullición, lo filtramos y obtenemos una infusión tan clara como la mejor agua potable. Dejémosla enfriar; supongamos que hallamos la densidad igual ó superior á 1,006, siendo la del agua de 1,000. Cierto número de botellitas vacías y limpias, de forma igual á la representada por la figura 6, se nos presentan alineadas ante nosotros. Calentemos ligeramente una de ellas, y sumerjamos enseguida su extremo en la infusión de nabo.

Haciendo enfriar entonces el recipiente el aire interior se contrae y absorve cierta cantidad de líquido. Ya tenemos de esta manera una poca solución dentro de la botellita. Calentémosla: se desprenderá del vapor que se escapará por el cuello, arrastrando consigo el aire contenido en el interior del propio recipiente. Después de algunos segundos de ebullición, sumerjamos de nuevo el pico abierto en la infusión. El vapor interior se condensará, el líquido ocupará su sitio, y de este modo llenaremos la botellita hasta á unas cuatro quintas partes de su volumen. Esta descripción es típica: podemos de la propia manera cargar mil botellitas con mil infusiones diferentes.

Entonces rogaremos á *nuestro amigo* fije su atención en una pequeña cubeta de cobre, calentada por medio de dos séries de pequeñas llamas de Bunsen. Esta cubeta ó baño se halla casi llena de aceite; un pedazo de madera le sirve de corbertera: ésta se halla atravesada por varios agujerillos bastante anchos, para que puedan caber los picos de las botellitas en ellos, atravesándolas y sumergiéndose en el aceite, que ha sufrido una calefacción de 250° Fahr. Rodeada por todas partes por el líquido caliente, la infusión se eleva á su punto de ebullición que no es sensiblemente superior de 212° Fahr. El vapor se escapa por el cuello abierto de la botellita, continuándose dicha ebullición durante cinco minutos.

En este estado un preparador coje la botellita por el cuello con unas pinzas á propósito, retirándola en parte del citado baño de aceite; de este modo el vapor no cesa bruscamente de salir, sino, antes al contrario, el escape se aviva. Con una segunda pinza preparada en la otra mano, el preparador aprieta el cuello de la botellita, cerca de la abertura por donde sigue escapándose el vapor y coloca el centro ó espacio que queda libre entre ambas pinzas á la acción de la llama de un pico de Bunsen ó de una lámpara de espíritu de vino (que para el caso es igual). El cristal adquiere el rojo, luego el blanco, se ablanda y en este estado se va adelgazando lentamente hasta que toda comunicación con el aire ambiente exterior queda suprimida. Se

(1) Se deben considerar los bacterios y otros organismos y aliados como productos correlativos que nacen en los fermentos de una manera tan independiente como ciertos otros compuestos químicos de naturaleza complexa.» Bastian, *Trans of pathological Society*, volumen XXVI, pág. 258.

halla herméticamente cerrado, y en este estado se quita del baño de aceite con la infusión que contiene, la cual se deja reposar.

Supongamos que llenamos sesenta botellitas ó frascos, que hervimos y cerramos del propio modo que acabamos de describir; que encierran infusiones de cohambro, nabo, vaca ó carnero; que se empaquetan luego cuidadosamente envueltos con aserrín de fina madera y que los trasladamos á los Alpes.

Esto hecho, vamos á invitar á *nuestro amigo* á ascender con nosotros á una altura de 7,000 pies sobre el nivel del mar. Estamos en Julio, época favorable para la putrefacción. Abramos la caja que contiene los tubos, botellitas ó frascos, como se quieran llamar, y una vez abierta, instalados en Bel Alp como estamos, hallamos que las infusiones contenidas en 54 botellitas están tan claras como pueda estarlo la mejor de las aguas potables filtrada. Sin embargo, la solución de las seis restantes se ha hallado enturbiada: examinándolas cuidadosamente advertimos que durante el viaje el frágil extremo del cuello se ha resquebrajado: el aire ha podido penetrar en estas seis botellitas, siendo causa de su enturbiamiento. Nuestro colega sabe tan bien como nosotros lo que esto significa.

Examinadas dichas botellitas con ayuda de un lente y hasta con la de un microscopio de débil potencia, no se ve señal alguna de vida, pero con otro más potente, de un poder de amplificación de 1,000 diámetros, por ejemplo, ¡qué distinto aspecto presenta y cuán sorprendente! Si Leuwenhoeck calculó que cada gota de agua estancada contenía 500 millones de habitantes, una gota de nuestra infusión contendrá un número de organismos cuadruplo ó quintuplo del indicado. El vasto campo que desarrolla el microscopio ante nuestra atónita mirada, está cuajado de séres que se mueven lentamente unos y con gran rapidez otros, pasando y traspasando mil veces corriendo de acá para allá ante nuestra vista, que los sigue con avidez; véseles lanzándose en todas direcciones como una lluvia de proyectiles, volviéndose tan rápidamente sobre sí mismos, que la retina conserva de su forma alargada la impresión de una rosca. Y sin embargo, algunos célebres naturalistas pretenden que son vegetales. Ofrecen muy á menudo la forma de un báculo (en griego *bactrón);* de ahí su nombre de *bacterio* que se le ha asignado; expresión con la cual se hallan comprendidos otros organismos de diversa naturaleza.

Semejante derroche de vida ¿ha sido engendrado expontáneamente en las citadas seis botellitas ó bien es la progenitura de cualquiera materia germinativa viviente allí conducida por el aire al penetrar en ellas? Si las infusiones gozan de un poder de generación inherente á las mismas, suyo propio, ¿cómo explicar la esterilidad de las cincuenticuatro botellitas cuyo contenido es exactamente idéntico al de las citadas seis?

Nuestro colega puede alegar (como realmente alega) que no es necesaria por completo la hipótesis de una materia germinativa: que el mismo aire puede ser causa indispensable para el desenvolvimiento de la generación. Examinemos sin pérdida de momento este punto. Recordaremos en primer lugar que las preparaciones tantas veces descritas se han efectuado ciñéndose escrupulosamente á las instrucciones dadas por uno de los heterogenistas más eminentes, el cual afirma que la disminución de presión encima de las infusiones favorece la producción de organismos y explica la carencia de ellos en las cajas de conservas de carne, frutas ó legumbres, por considerar hipotéticamente que la fermentación *ha principiado* en el interior de las mismas, que los gases *han sido también engendrados* y que la presión ejercida por éstos ha sido suficiente para detener todo desarrollo de vida interior (1). Tal es la nueva teoría acerca las conservas alimenticias.

Si el doctor Bastián hubiese agujereado dentro del agua una de esas cajas de carne en conserva, de frutas ó de legumbres, hubiera visto cuan errónea era su interpretación. En las cajas bien confeccionadas, nosotros no hemos visto jamás un escape ó salida de gases, sino una invasión ó entrada de agua.

El propio Tyndall advirtió eso en unas cajas de conserva que hacía más de sesenta años que estaban en la Real Institución. Otras

(1) *Beginnings of Life* vol. I, pág. 418.

modernas sometidas al propio experimento dieron el mismo resultado.

Además, durante los dos años últimos se colocaron de tiempo en tiempo ciertos tubos de vidrio conteniendo infusiones de claras de nabo, heno, vaca y carnero en unos vasos de hierro que se sometieron á presiones que variaban de diez á veintisiete atmósferas; presiones más que suficientes para quebrar en mil pedazos una caja de conservas. Diez días después dichas infusiones se sacaron de los frascos que las contenían, y se hallaron en la más completa putrefacción y pobladas de vida. De esta manera se destruye una hipótesis que carecía de base racional, y que probablemente jamás se hubiera echado á volar entre el campo científico, si su autor se hubiese tomado la molestia de comprobarla por medio del experimento.

Las cincuenta y cuatro botellitas límpidas atestiguan lo contrario y se declaran asimismo en contra de los heterogenistas. Fueron expuestas durante el día á la acción del calor de los alpes y suspendidas durante la noche en la cocina, cuya temperatura era bastante cálida. De ellas se quebraron cuatro accidentalmente; pero un mes más tarde se hallaron las cincuenta restantes tan claras como en los primeros días. No se presentó en ellas ni el más leve indicio de putrefacción ó de vida.

Dichos frascos ó botellitas se dividieron en dos grupos de veintitres y veintisiete respectivamente (un error de cálculo produjo semejante desigualdad). Ahora la cuestión se reduce á saber si la admisión del aire podrá poner en evidencia un poder ó fuerza cualquiera de generación espontánea existente en estado latente. Los siguientes experimentos responderán de una manera terminante á dicha proposición: Se condujeron las infusiones á un sótano lleno de heno y se cortaron los picos de las botellitas del grupo de las veintitres, con ayuda de unas tijeras de acero. Como es consiguiente, el aire invadió inmediatamente los tubos. Después se practicó la propia operación con el grupo de las veintisiete, conduciéndolas, juntamente con las tijeras y lámpara de espíritu de vino, á el ventisquero de Aletsch, á 200 pies aproximadamente por encima del nivel de dicho sótano anterior; en dicho punto la cadena de montañas describe una curva hacia el NE. dirigiéndose á él en una longitud de mil pies. El airecillo sopla en esta dirección hacia nosotros, esto es, que pasa primero rozando las crestas coronadas de nieve de los montes del Oberland. Nos daba pues de lleno aquel aire, que tan bueno debía ser para la germinación y desarrollo de la vida animal ó vegetal.

Se pusieron cuidadosamente las botellitas dando frente á la dirección en que soplaba el aire, á fin de que ningún polvillo de los vestidos pudiera introducirse en ellas. Un preparador encendió la lámpara de espíritu de vino, por cuya llama se pasaron las tijeras, á fin de que si acaso se hubiese adherido algún organismo á las mismas quedase destruído por el fuego: hecho esto, se cortaron los picos cerrados de las botellitas, verificando la misma operación y tomando idénticas precauciones en cada una de ellas.

De este modo se abrieron las veintisiete botellitas, y se pusieron en contacto con el aire puro y vivificante de aquellos montes.

Las cincuenta botellitas que componían ambos grupos fueron enseguida colocadas sobre los fogones de la cocina, con su cuello abierto y á una temperatura de 50 á 90 grados Fahr.; y en tres días veintiuna botellitas del grupo de las veintitres abiertas en el sótano del heno, aparecieron invadidas por los consabidos organismos; solamente dos quedaron libres. Después de tres semanas de exposición en condiciones idénticas, *ni una sola de las botellitas que componían el grupo de las veintisiete había cedido.*

Ninguno de los gérmenes del aire de la cocina había podido atravesar el largo y estrecho cuello de las botellitas, construído exprofeso para evitar semejante perturbación. Siguen todavía en los Alpes, sin la menor duda, tan claras y límpidas y exentas de vida como cuando se transportaron de Lóndres.

¿Que consecuencia sacará nuestro colega de los experimentos que acabamos de mencionar? Veintisiete infusiones susceptibles de putrefacción, no han presentado de ella el menor rastro; han permanecido completamente exentas de vida, primero en el vacío, luego expuestas á un aire vigoroso, mientras

que las del primer grupo, las otras veintiuna de las veintitres, casi juzgaremos inútil preguntar á *nuestro amigo* porqué el aire del sótano lleno de heno las había hecho fecundas. Evidentemente no fué un aire especial el que obró sobre ellas en este caso, puesto que dicho sótano estaba en conexión continua con la atmósfera por su puerta constantemente abierta, sino más bien *algo* contenido en aquel aire. ¿Qué *algo* fué aquél? Un rayo de sol que hubiese penetrado por una rendija de aquellos muros y hubiese atravesado aquel aire, sin duda que hubiera puesto de manifiesto lo cargado que estaba de partículas en suspensión: y hasta la misma difusa luz del día que penetraba allí también hacía lo propio; se notaba perfectamente una nube de polvillo flotante en él. ¿Tal vez sería la causa de la vida observada? Si así fuese, ¿cuántos experimentos hemos referido no nos conducirían á mirar dichas partículas como gérmenes de vida?

El nombre del barón de Liebig se ha mezclado constantemente en todas esas discusiones. «Tenemos, se decía, en nuestro apoyo la autoridad de Liebig, para sostener que la materia muerta, descomponiéndose, puede producir la fermentación.» Esto es verdad, pero tratándose de Liebig la idea de fermentación no es sinónimo de la de vida. Según él, esa palabra significa la agitación resultante de la descomposición química de las moléculas instables.

¿La vida desarrollada en nuestras botellitas procedería pues de las partículas muertas? Si nuestro colaborador dijese que sí, le preguntaríamos: ¿Sobre qué datos se apoyaba para sostener semejante afirmación? ó ¿entre los fenómenos vitales, de los cuales conocemos exactamente el curso, puede hallarse la más ligera base sobre qué establecer la noción de que *sembrando* moléculas *muertas* produzcan *una cosecha viva?*

En cuanto al barón de Liebig, si hubiese estudiado las revelaciones del microscopio en cuanto á lo que se relaciona con semejante asunto, de fijo que un talento tan penetrante como el suyo no hubiera dejado de reconocer su significación. Sin embargo, dejó el microscopio de lado y cayó en el error; pero no en un error tan grande que pueda servir de sostén á los que invocan su autoridad. Si hoy viviese todavía, no tenemos duda que protestaría del abuso que se comete trayendo y llevando su nombre, venga ó no á cuento, puesto que en definitiva las opiniones de Liebig acerca la fermentación han sido, por lo menos, hipótesis científicas fundadas sobre profundas concepciones de la instabilidad molecular: y de todas sus conclusiones no resulta que sembrando partículas *muertas*,—*Stickstoffsplittern*, como las denomina Cohn con desprecio,—se obtenga un desarrollo de vida infusorial.

Volvamos á Lóndres y fijemos nuestra atención en el polvillo de su aire. Instalémonos en una habitación concluída de barrer por la criada y cerrémosla, dejando sólo una aberturilla por la cual filtre un rayo de sol que atraviese la sala. El polvo flotante indica la proyección del rayo luminoso. Coloquemos un lente en la aberturilla para condensar dicho rayo luminoso. Sus bases paralelas formarán en este caso un cono, en cuyo vértice ó cúspide el polvo forma una especie de blanca nube continua gracias á la intensidad de la iluminación. Estando en la obscuridad, el ojo extremadamente sensible puede apreciar perfectamente cuanto contenga aquel único rayo luminoso que se destaca poderosamente al dispersar la luz. El polvo flotante de las habitaciones de Lóndres es esencialmente orgánico y puede ser generado sin dejar ningún residuo visible. Tyndall ha descrito ya la acción de la llama de una lámpara de espíritu de vino, sobre tales partículas, de la manera siguiente:

«En un rayo cilíndrico que iluminaba fuer»temente el polvo del laboratorio, coloqué »una lámpara de espíritu de vino encendida: »mezclándose con la llama y alrededor de sus »orillas, veíanse curiosos anillos obscuros »parecidos á los que produce el humo de un »negro intenso. Colocando la lámpara á al»guna distancia separada debajo del rayo de »luz, he visto á esas mismas masas obscuras »girar por encima de ella: eran más negras »que la más espesa masa de humo que se es»capa por la chimenea de una fábrica de va»por; y por otra parte, su parecido con el

»indicado humo era tan perfecto, que inclina»ba al observador más experimentado á con»cluir que la llama del alcohol, aparente»mente pura, exigía simplemente un rayo de »sol de suficiente intensidad, para revelar »esas nubes de carbono libre.

»Por lo tanto, ¿esos anillos obscuros eran »realmente humo? Una vez formulada esta »pregunta, fué resuelta de la manera siguien»te: una especie de espetón candente se colo»có debajo del rayo luminoso en lugar de la »lámpara, é igualmente dió lugar á la forma»ción del propio humo negro: después se »probó lo mismo con una ancha llama de hi»drógeno y también produjo las mismas ma»sas obscuras giratorias, pero aún mucho más »intensas que las producidas por la de espí»ritu de vino y por el espetón. Luego la idea »del humo debió abandonarse, no era tal »humo.

»¿Qué eran pues aquellas masas negras? »Pues eran sencillamente lo negro del espa»cio estelar; esto es, las tinieblas que resultan »cuando los rayos lumínicos no encuentran »ninguna materia susceptible de dispersar su »luz. Hallándose colocada la llama debajo de »aquél, las materias en suspensión se des»truían alrededor de la llama, ó sea en el »vasto círculo que describía la misma, y el »aire, privado de dichas materias, se elevaba »por el interior del círculo, separando las »partículas iluminadas y substituyendo la luz »de las mismas con las tinieblas de su propia »y perfecta transparencia.

»Nada puede dar idea tan acabada y per»fecta de la invisibilidad del agente que vuel»ve toda cosa visible. El rayo, imperceptible, »atravesaba las negras lagunas formadas por »el aire transparente, mientras que á ambos »lados de la abertura las partículas apretadas »brillaban como un sólido resplandeciente »bajo la potente iluminación.»

Supongamos que una infusión estéril por sí misma, pero susceptible de putrefacción, así que se halla expuesta al aire ordinario, sea puesta en contacto con dicho aire obscuro: ¿Cuál será el resultado? No se putrificará nunca. Se podría alegar, sin embargo, que la composición del aire ha sido cambiada por la calcinación. Parece que habiendo atravesado el oxígeno la llama de una lámpara de espíritu de vino, no debe ser ya apto para entretener la vida. Podemos salvar esa dificultad, por más que descanse sobre la seguridad *indemostrable* de que el aire ha sido afectado por la llama.

Conduzcamos un rayo condensado á través de un ancho frasco ó retorta que contenga aire ordinario, el polvo revelará la luz y recíprocamente. Tapemos el frasco, obliteremos su cuello con nata ó bien volvámosle al revés, con la cabeza hacia el suelo, y dejémosle en reposo durante algunos días. Examinado entonces por medio del rayo luminoso, no aparece ninguna señal; la luz pasa á través del frasco como si atravesara el vacío. Las materias en suspensión han desaparecido por sí mismas, estando adheridas á la superficie interior de la retorta. Si nuestro objeto fuese en este caso, como lo será más tarde, separar el polvillo, sería suficiente untar el interior del frasco con una materia viscosa. Aquí, pues, sin *torturar* el aire en modo alguno, hemos hallado el medio de separar, ó más bien, le hemos permitido que por sí mismo se desembarace de las materias flotantes.

Tenemos ahora que probar la acción del aire así purificado espontáneamente sobre las infusiones putrescibles. Tyndall hizo construir para este objeto unas cámaras de madera, con su fachada de cristal, ventanas laterales y puertas detrás. A través del fondo de dichas cámaras pasaban contenidos tubos de prueba ó ensayo; sus extremos abiertos, y poco más ó menos una quinta parte de la longitud de ellos se hallaban dentro de las cámaras. Una disposición especial determinaba y permitía la libre conexión por medio de sinuosos conductos entre el aire interior y la atmósfera. Por medio de tales conductos, aún que abiertos, ni la más ténue partícula de polvo podía penetrar en el interior de las cámaras. La cúspide de cada compartimiento se hallaba agujereada circularmente; esta abertura tendría dos pulgadas de diámetro, y se cerró herméticamente por medio de un tapón de cautchuc; éste á su vez se hallaba atravesado en el centro por un tubo de pipeta que terminaba encima en forma de embudo. Este

tubo atravesaba igualmente un acolchado interior de algodón en rama, humedecido con glicerina, de modo que la pipeta, estrechamente oprimida entre el cautchuc y el acolchado de algodón, no pudo introducir consigo ni el más leve átomo de polvo en la cámara, fuese cual fuese el movimiento que se le imprimió.

La figura 2 presenta una de esas cámaras con seis tubos de prueba ó ensayo, y de la cual las ventanas laterales son *w w*, la pipeta *p c* y los conductos sinuosos que ponen en conexión el aire interior con la atmósfera, son los señalados con *a b*.

Cuidadosamente cerrada y abandonada al reposo durante dos ó tres días, dicha cámara, examinada al principio con auxilio de un rayo luminoso enviado á través de sus ventanas, presentó claramente visible su aire interior cargado de materias flotantes que al cabo de tres días desaparecieron por completo. Para impedir que flotaran de nuevo separándose en las paredes de la cámara, se revistieron éstas con glicerina. El líquido fresco pero susceptible de putrefacción, se introdujo sucesivamente en los seis tubos por medio de la pipeta. Caso de no tomarse ninguna precaución, no dejaría de putrificarse y llenarse de vida: porque, en efecto, dicho líquido estuvo en contacto con el aire exterior cargado de polvo, el cual lo infectó, indudablemente; por lo tanto, debía de destruirse dicha infección, y esto se consiguió sumergiendo los seis tubos en un baño de aceite y haciendo hervir las infusiones. El tiempo necesario para destruir la infección depende de la naturaleza del líquido.

En algunos casos son suficientes dos minutos, mientras que en otros no bastan doscientos. Después que las infusiones fueron esterilizadas, se quitaron del baño de aceite, y el líquido cuya susceptibilidad de putrefacción no fué afectada por la ebullición, quedó abandonado al aire de la cámara.

Tyndall ensayó con tales cámaras toda clase de infusiones durante el otoño y el invierno de 1875-76, particularmente líquidos naturales orgánicos, carne y visceras de animales domésticos, volatería, pescados y vegetales: se emplearon más de cincuenta cámaras con sus series de infusiones y algunas repetidas veces.

Los resultados no dejaron duda de ninguna clase. *En cada caso se advirtió limpidez y frescura en el interior, putrefacción y su fetidez característica en el exterior.*

Durante el curso de estos experimentos, nunca se manifestó fenómeno alguno que pudiera dar pábulo, aunque fuese indirectamente, á la noción de que un líquido privado de vida propia por el calor y puesto en contacto con el aire, libre de materias en suspensión, pudiese hallarse en aptitud de engendrar la vida de nuevo.

Teniendo en consideración el número y variedad de infusiones empleadas y las precauciones tomadas para seguir lo más minuciosamente posible cuantas reglas de preparación han establecido los heterogenistas; considerando asimismo que dichos experimentos tuvieron lugar con substancias recomendadas por ellos como especialmente propias para suministrar hasta en manos inexpertas pruebas decisivas de generación espontánea, y que además se añadieron por cuenta propia cuantas se juzgaran más susceptibles de semejante acción, escogidas expresamente entre las más aptas, seguramente si el pretendido poder de generación espontánea fuese una realidad, hubiera debido manifestarse en alguna de ellas, pero podemos asegurar formalmente y en números redondos que *quinientas ocasiones se le han presentado para ello,* pero *jamás ha aparecido nada.*

Nuestro argumento debe ahora ser confirmado por un experimento complementario que muestre evidentemente que las infusiones mencionadas eran á pesar de todo susceptibles de entretener la vida: se abrieron las puertas de las cámaras que, como se indicó, estaban herméticamente cerradas, y permitióse la entrada al aire del gabinete, que libremente pudo tener acceso en los tubos. Durante tres meses habían permanecido éstos límpidos y frescos, formando extractos de carne, pescado y vegetales más puros que los de cualquier cocina. Pues así que se hubo dado acceso al aire, solamente tres días fueron suficientes para enturbiarlos, volverlos fétidos, y para que se desarrollara la vida infu-

soria en gran escala. Los líquidos aparecieron ser todos aptos para la putrefacción, de hidratarse con los agentes del contagio.

Invitamos á *nuestro amigo* á que reflexione sobre estos hechos. ¿Cómo explicará la inmunidad absoluta de un líquido expuesto durante meses enteros en una cámara caldeada á la acción del aire ópticamente puro, y su invariable putrefacción sólo en algunos días por la exposición al aire cargado de polvo? lógico será que admita que las partículas de polvo son la causa única de dicha putrefacción. Nos parece esto claro, razonable y hasta evidente, y á menos que acepte la hipótesis de que estando esas partículas muertas en el aire se cambien *milagrosamente* en el líquido en cosas vivientes, debe reconocer que la vida observada procede de los gérmenes ú organismos esparcidos en la atmósfera.

Los experimentos practicados con frascos herméticamente cerrados se elevan á 940. Un grupo de 130 se presentó en la Sociedad Real el 13 de Enero de 1876. Estaban todos completamente libres de vida, habiendo sido esterilizados por tres minutos de ebullición. Se habían tomado especiales cuidados, á fin de que la temperatura á que estuvieran sometidos fuese la misma que estaba indicada como eficaz. Las condiciones impuestas por los heterogenistas fueron minuciosamente observadas, sin que los experimentos dieran el resultado previsto por aquellos.

Entonces se elevó bruscamente la temperatura á 30° más sobre la que hasta aquel momento se había experimentado. A pesar de ello, los resultados fueron los mismos. Los mismos tubos cerrados presentados completamente esterilizados á la Institución Real, se suspendieron nuevamente en cajas completamente agujereadas y se confiaron á los cuidados de un preparador inteligente, en los baños turcos de la calle de Jermyn.

Se conceden de dos á seis días para la generación de los organismos en los tubos herméticamente cerrados. Aquéllos permanecieron en la sala de ablusiones de los citados baños durante nueve días. Los termómetros colocados en las cajas y observados dos ó tres veces durante el día, señalaron una temperatura que varió de 101° como mínimum á un máximum de 112° Fahr. Al cabo de los nueve días las infusiones estaban tan claras como al principio. Entonces se colocaron á una temperatura mucho más elevada, puesto que se supo que la de 115° era la más favorable para la generación espontánea. Durante catorce días la temperatura de los baños turcos osciló en torno de dicho máximum, descendiendo una vez á 106°, pero alcanzando otras 116°, y llegando en otras hasta 118 y 119. El resultado fué el mismo. Las temperaturas más elevadas fueron ineficaces para desarrollar la vida en los citados tubos.

Tomando este experimento como base, calculamos que si los 940 frascos se hubieran abierto en los sótanos de heno de Bel Alp, lo menos en 858 de entre ellos se hubieran desarrollado los organismos. El hecho de que los 82 restantes habrían escapado de la invasión viene en apoyo de nuestra teoría, puesto que hubieran probado que no es en el aire, ni en las infusiones, ni en otra cualquier cosa esparcida uniformemente por la atmósfera, sino más bien en las *partículas aisladas* distribuídas acá y acullá y absorvidas por las infusiones, donde conviene buscar y hallar el origen de la vida.

Los muchos experimentos verificados demuestran que dichas partículas están algunas veces bastante alejadas unas de otras,—como en el sótano de heno, por ejemplo,—para permitir que un diez por ciento de los frascos escape del contagio. Hace ya veinticinco años que Pasteur probó que la causa de la llamada *generación espontánea* era discontinua. Ya hemos tratado antes de los experimentos del mismo, según los cuales doce frascos solamente sobre veinte escapaban á la infección cuando se les abría en la playa, mientras que dicho número se elevaba á 19 cuando se les abría en plena mar glacial. Los mismos experimentos de Tyndall verificados en Bel Alp constituyen un hecho de la propia índole, pero aún más marcado; pues un 90 por ciento de los frascos estaban cerrados en el sótano de heno, mientras que ni uno solo de los abiertos al aire libre de las montañas fué atacado.

El poder del aire, con respecto á la infección, varía continuamente bajo el influjo de

los fenómenos naturales, y podemos alterarlos según nuestra voluntad. En cierto número de frascos abiertos en 1876 en el laboratorio de la Institución Real, un 42 por ciento se infectaron, mientras que 58 por ciento no; en 1878 la proporción fué relativamente en el mismo laboratorio de un 68 por ciento invadidos por un 32 por ciento que permanecieron intactos.

La más grande mortalidad de infusiones, si se nos permite expresarnos de esta manera, fué debida á la presencia del heno que esparció su polvillo germinativo por el aire del laboratorio, dejándole tan infeccioso como el del sótano de los Alpes. Llamaremos la atención á *nuestro amigo* acerca los hechos que acabamos de exponer: no prueban que la generación espontánea sea *imposible*. Nuestras afirmaciones no se refieren á la *posibilidad*, sino á las *pruebas*, y los experimentos antes descritos demuestran evidentemente que las razones sobre las cuales se apoyan los heterogenistas no están mejor fundadas.

Estamos persuadidos que *nuestro colega* no discutirá estos resultados, pero puede tal vez alegar que otros sabios, ocupándose del mismo asunto, han alcanzado resultados distintos. No lo negamos, pero que se nos permita recordar algunas observaciones hechas ya al hacernos cargo de los experimentos de Spallanzani, á saber: que, aún cuando otros no hayan alcanzado los mismos resultados, esto no prueba en modo alguno que éstos sean erróneos.

Para fijar las ideas, supongamos que *nuestro amigo* hace una visita al laboratorio de la Institución Real, que repite los experimentos de Tyndall y que obtiene idénticos resultados que éste: que luego vaya á la Universidad ó á otra parte cualquiera y obtenga otros completamente distintos: ¿deducirá de ello que la propia substancia estéril en la calle de Abemarle es fecunda en la calle de Gower ó en otra parte? Los experimentos alpestres han demostrado suficientemente las infinitas variedades de aire por lo que respecta á la aptitud para la putrefacción. Conocidas tales circunstancias ¿no es más lógico substituir la conclusión aventurada de que una infusión orgánica sea estéril en un sitio y fecunda en otro, por la conclusión racional de que las atmósferas de ambas localidades son desigualmente infecciosas?

Además, en cuanto á lo que se refiere á la práctica, ¿la observación de los diversos hechos no le sugerirá la idea de que la *fecundidad* puede deberse á errores de manipulación, mientras que la *esterilidad* supone corrección en los experimentos? Sólo un trabajador cuidadoso puede alcanzar lo último, mientras que lo primero supone más bien un novicio. La esterilidad es el resultado hacia el cual el experimentador concienzudo debe tender, no perdonando medio para obtenerla, y alcanzándolo sólo cuando ya no haya medio de ser de otra manera, seguro de que la vida observada acaso no proceda de ningún origen que haya estado en su mano evitar ó destruir.

Pongamos un ejemplo: supongamos que *nuestro colega* experimenta con el mismo cuidado aparentemente sobre 100 infusiones, —ó mejor todavía, sobre 100 partes sacadas de la misma infusión,—y que de ellas 50 se muestren fecundas y 50 estériles. ¿Diremos que las pruebas en favor ó en contra la heterogenia se han equilibrado? Algunos sin duda admitirán que los 50 frascos fecundados representan resultados *positivos* y los 50 esterilizados *negativos*. Pero es una inversión del estado real de las cosas, como ha demostrado el doctor Robert (1). No creemos que *nuestro amigo* fuera de este parecer. Creemos más bien que al observar el resultado de los 50 frascos fecundados, volvería á repetir el experimento con más cuidado que nunca y no una sola vez, sino varias, hasta asegurarse de la certeza ó del error. Tales repeticiones, minuciosamente verificadas, le conducirían siempre á la convicción de que si la generación espontánea existe, los medios de demostrarla no se hallan actualmente en manos del experimentador.

Los botánicos saben que las diferentes semillas poseen diversas facultades de resisten-

(1) Véanse sus observaciones verdaderamente filosóficas acerca dicho asunto en el *British medical journal*, 1876, pág. 282.

cia al calor (1). Algunas de ellas quedan destruídas con una corta exposición á la temperatura de ebullición, mientras que otras resisten durante muchas horas. La mayor parte de las simientes comunes, quedan rápidamente destruídas: mientras que Pouchet ha dado á conocer á la Academia de Ciencias, en 1866, que ciertos granos que habían sido transportados del Brasil empaquetados con lana germinaban todavía después de cuatro horas de ebullición. Los gérmenes existentes en el aire varían tanto entre sí como las simientes del botánico.

En ciertas localidades dichos gérmenes son tan sensibles que bastan cinco minutos de ebullición, ó aún menos, para que queden destruídos: en otras partes son, por el contrario, tan resistentes, que son necesarias un gran número de horas de ebullición para privarlos de su poder de germinación. La presencia ó ausencia de un haz de heno desecado puede producir grandes diferencias en los resultados observados. La mayor resistencia que se observó, y la cual creemos haber indicado, es un caso de supervivencia después de ocho horas de ebullición.

Relacionando los gérmenes de nuestra atmósfera con su resistencia al calor, pueden clasificarse como sigue: destruídos con cinco minutos de ebullición: no con cinco y si con quince: no con quince y si con treinta: no con treinta y si con una hora: no con una hora y si con dos: no con dos y si con tres horas: no con tres y si con cuatro. Se han dado casos de supervivencia tras cuatro, cinco, seis y algunos, en fin, hasta ocho horas de ebullición.

Tal es el actual estado de nuestros conocimientos acerca dicho agente, pero no hay límite superior á la resistencia de los gérmenes, y el número ocho sólo debe aceptarse provisionalmente. Más extensas investigaciones (por más que las de Tyndall hayan sido ya muy numerosas) revelarán, sin duda, resistencias acaso mucho más obstinadas. Como también es cierto que existen otras que se destruyen por medio de una temperatura mucho más inferior que la del agua hirviendo. Ante semejantes hechos, señalar un grado determinado de temperatura destructiva de esos gérmenes, sería un absurdo.

¿Quién, se ha preguntado, osaría afirmar que una simple masa pequeña de protoplasma desnuda, ó casi desnuda, puede resistir á cuatro, seis ú ocho horas de ebullición? Por lo que respecta á estas masas de protoplasma desnudas, no afirmamos nada absolutamente. De ellas no conocemos otra cosa sino la de que son creaciones imaginarias. Pero podemos afirmar, no como una *suposición*, no como una *cosa probable*, sino como un hecho indudable, que los esporos del bacilo del heno, cuando están suficientemente desecados por la edad, gozan del poder de resistencia antes mencionado.

Y además, podemos afirmar que el conocimiento preciso de que son gérmenes, permite que se puedan destruir con cinco minutos de ebullición lo menos. Nos explicaremos: los bacterios completamente desarrollados perecen á una temperatura, de mucho más intensa que la del agua hirviendo, y es fácil de comprender que cuanto más se aproxima un gérmen al momento de la metamórfosis, tanto más sensible es á la acción del calor. Las simientes se ablandan un poco antes y durante la germinación. Supuesto esto, la descripción del método siguiente bastará para que se comprenda su significación.

Una infusión infectada de gérmenes muy resistentes, pero protegida por otra parte contra las materias en suspensión en el aire, es gradualmente elevada á su punto de ebullición. Los gérmenes que en este caso han alcanzado el estado blando, plástico, pasando inmediatamente á su transformación en bacterios, se hallan así completamente destruídos. La infusión entonces se abandona al reposo, en una cámara cálida, durante diez ó doce horas, si veinticuatro horas son suficientes á poblar el líquido de bacterios.

Para evitar la metamórfosis, al cabo de diez

(1) Debemos á M. Thyselton Dyer numerosos ejemplos de parecidas diferencias. Es sorprendente que un asunto de tanto interés científico, no haya sido todavía estudiado con la asiduidad que se merece. Las causas que obran en las simientes podrían darnos, sin duda, mayores conocimientos de los que poseemos en materia de putrefacción.

ó doce horas someteremos por segunda vez la infusión á la temperatura de ebullición que, como antes, destruirá los gérmenes cercanos á desarrollarse. Luego abandonaremos de nuevo al reposo la infusión durante otras diez ó doce horas, volviendo después á principiar otra nueva ebullición. De semejante manera podremos destruir progresivamente los gérmenes *siguiendo el orden de su resistencia,* terminando por hacerlos desaparecer todos.

Ninguna solución puede resistir á este método si se repiten las operaciones un número suficiente de veces. Algunas infusiones de alcachofa, cohombro y nabo, que se habían mostrado especialmente resistentes así que estaban infectadas con los gérmenes de heno desecado, fueron completamente esterilizadas por este procedimiento de calefacción discontinua, siendo suficientes tres minutos para lograr lo que tal vez trescientos de ebullición continua no hubieran logrado.

Además, aplicando este método á diversas especies de heno, comprendiendo entre ellas aquellas en que la vida se mostraba más tenaz, una sola resistió. Estos resultados estaban claramente previstos antes que se realizaran, de modo que la teoría de los gérmenes puede considerarse como reuniendo las condiciones de una teoría exacta, es decir, que permite prever, y sus previsiones se hallan confirmadas luego por la experiencia.

Cuando se nos habla de masas de protoplasma desnudas ó casi desnudas, con ello se dirigen á nuestra imaginación y no á la verdad objetiva de la Naturaleza. Semejantes palabras son como las frases pomposas científicas, en las cuales la ciencia es realmente nula. La posibilidad de un *delgado revestimiento* es, sin embargo, aceptada por algunos. Dicho revestimiento en este caso podría ejercer una poderosa influencia protectora. Una delgada película de cauchuc, por ejemplo, envolviendo un guisante en conserva, puede resistir durante la ebullición y esto durante un tiempo que bastaría para reducir á pulpa á otro. La película previene la imbibición, la difusión y la desintegración que es la consecuencia. Una superficie grasienta ó aceitosa, ó hasta la capa de aire que se adhiere á ciertos cuerpos obraría exactamente de la misma manera.

«La singular resistencia á la esterilización, dice el doctor William Roberts, parece que se debe á alguna particularidad de la superficie, tal vez á la suave costra que no se deja humedecer con facilidad.» Tyndall decía en 1876 que investigar la manera como se moja un gérmen atmosférico, sería un interesante asunto digno de ser investigado. Un cubreobjeto de microscopio puede flotar en el agua durante años enteros estando seco. Una aguja puede conservarse en la superficie de este líquido aún que su densidad sea ocho veces más fuerte. Si no existiese alguna relación específica entre la materia y el germen y la del líquido en el cual cae, la humedad sería imposible de todo punto.

Antes de cualquiera clase de desarrollo debe haber un cambio entre la materia del germen y su envoltura, y este cambio debe depender evidentemente de la relación del germen con el líquido en cuestión. Todo cuanto se oponga á dicho cambio retarda la destrucción del germen por medio del agua hirviendo. En la memoria publicada por Tyndall en las *philosofical transactions,* en 1877, añadió la siguiente observación:

«No es difícil de concebir que la superficie de una simiente ó de un germen pueda estar de tal manera afectada por la disecación que toda especie de contacto entre ella y el líquido ambiente sea imposible. Además, el cuerpo de un germen puede estar suficientemente endurecido por el tiempo y la sequedad para resistir eficazmente la introducción del agua entre sus moléculas constitutivas. Es, pues, difícil de producir la imbibición necesaria á tal germen, para que el hinchamiento y reblandecimiento que preceden siempre á la destrucción en un líquido elevado á una alta temperatura, puede tener lugar.»

Sin embargo, esto puede ser. Por lo tanto, cualquiera que sea el estado de la superficie de los esporos del *bacillus subtilis,* es un hecho que resisten en ciertas circunstancias á muchas horas de ebullición. Ningún escepticismo teórico puede haber contra ese hecho establecido, no por centenares, sino por mi-

llones de experimentos conducidos con escrupuloso cuidado.

Ahora tenemos que comprobar uno de los principios fundamentales de la generación espontánea tal cual ha sido enunciado. Para ello colocaremos delante de *nuestro amigo y colaborador* dos líquidos que han sido conservados durante seis meses en una cámara de las ya mencionadas anteriormente, herméticamente cerrada, en la cual se hallaban expuestos á la acción del aire ópticamente puro. Uno de ellos es una solución mineral que contiene, en proporciones convenientes, todas las substancias que entran en la composición de los bacterios; y el segundo es una infusión de nabo,—que del mismo modo hubiera podido ser cualquiera de las otras cien infusiones animales ó vegetales.

Ambos líquidos están claros, tanto como pueda estarlo el agua destilada, sin que se observe ningún rastro ni señal de vida. En una palabra, están completamente esterilizados. Por otra parte, un trozo de carnero sobre el cual se ha derramado un poco de agua, se halla colocado en un plato en la sala caldeada del laboratorio: despide una fetidez insoportable: una gota de aquel caldo expuesto al objetivo del microscopio, presenta un millón de bacterios. Transportemos una de esas gotas sobre las soluciones mineral y de nabo, ambas se inocularán con ello absolutamente lo mismo como inocula el cirujano á un niño la viruela.

En menos de veinticuatro horas los líquidos transparentes hánse enturbiado por completo, y en lugar de la transparencia y esterilidad que antes se observaba, vése ahora hormiguear la vida. El experimento puede repetirse mil veces y todas mil dará el propio resultado. Primeramente dichos líquidos límpidos, eran idénticos á simple vista; ahora también lo son, pero es porque están enturbiados por igual. En vez de ese caldo pútrido de carnero podríamos tomar otro cualquiera de infección animal ó vegetal. Conteniendo cualquier líquido bacterios vivos, basta una sola gota para transformar las infusiones más claras de nabo ú otra substancia, y la solución mineral límpida, de la manera que acabamos de expresar.

Si queremos podemos ahora variar los experimentos de la manera siguiente: abramos la puerta posterior de otra cámara herméticamente cerrada, que ha contenido durante meses enteros y sin modificarlas, la infusión de nabo y la solución mineral, una al lado de otra. Sacudamos una leve cantidad de polvillo del laboratorio en cada uno de esos líquidos. El efecto será más lento que empleando la anterior gota pútrida; sin embargo, tres días después de su infección por el polvo, la infusión de nabo se enturbia lo mismo que anteriormente y se llena de bacterios. Pero ¿por qué no sucede lo propio con la solución mineral, la cual en los primeros experimentos se condujo de una manera idéntica á la infusión de nabo? Al cabo de tres días todavía no pudo observarse señal alguna de bacterios.

Repetido cien veces el experimento, otras tantas veces da el propio resultado. Con la infusión de nabo siempre obtenemos la vida una vez introducido en ella el polvo del laboratorio; pero con la solución mineral jamás la materia germinativa seca se transforma en vida activa (1). ¿Que deducirá de esto un talento reflexivo? ¿No está tan claro como el día que los líquidos son aptos para nutrir los bacterios, para favorecer su producción, pero solamente *cuando están completamente desarrollados?* Por el contrario uno solo de entre ellos es susceptible de transformar la materia germinativa en bacterios adultos.

Suplicamos á *nuestro amigo* que reflexione acerca de esta particularidad: creemos que le costará algún trabajo salir de ese círculo vicioso. Puede, si lo prefiere, emitir la opinión que juzgamos errónea, á saber: que los bacterios no existen en el aire en estado de gérmenes, sino como organismos desecados. La cuestión queda en pie; cuando más, se deducirá que un líquido es susceptible de determinar el paso del estado inactivo al activo, pero nada más. Y esto dista mucho de la conclusión que se ha pretendido sacar de los experimentos verificados en soluciones minerales.

---

(1) Tales son los resultados por otros autores. En cuanto á nosotros, diremos que, á pesar de ser lento, el desarrollo no es imposible, como han demostrado algunos experimentos practicados por Tyndall.

Viendo que eran capaces de nutrir bacterios cuando se las inoculaba con esos organismos vivos, y observando que ningún bacterio se desarrolla en una solución mineral, hasta con una larga exposición al aire, se ha deducido de esto que *ni los bacterios ni sus gérmenes existían en el aire.*

En Alemania todos los trabajos en favor ó en contra la heterogenia encierran dicho error, mientras que los heterogenistas lo consideran como la mejor de las demostraciones en apoyo de su teoría. «Está probado, dicen, »por la manera de conducirse las soluciones »minerales, que ni los bacterios, ni sus gér»menes existen en el aire; luego si se expone »al aire una infusión de nabo cuidadosamente »esterilizada, si aparecen en ella bacterios, es »porque se han desarrollado espontáneamente.» Hé aquí, además, los términos con que se expresa el doctor Bastian con respecto á esto: «Solamente podemos deducir que, mien»tras que una solución salina hervida es inca»paz completamente de engendrar bacterios, »estos organismos son susceptibles de criarse »*de novo* en una infusión orgánica tratada de »la propia manera (1)».

Ahora preguntamos á nuestro eminente *colega* qué piensa de semejante razonamiento. Fijemos bien los términos: ANTECEDENTE: *una solucion mineral expuesta al aire no desarrolla bacterios.* CONSECUENTE: *luego si una infusión de nabo desarrolla, en las mismas condiciones, tales organismos, es que han sido engendrados espontáneamente.* No tan sólo es ilógica semejante conclusión, sino que además se halla en abierta contradicción con los hechos prácticos resultado de los experimentos verificados, y de los cuales nos hemos ocupado extensamente en otro lugar. Recordemos que entonces dijimos que el aire de Lóndres está tan cargado de bacterios, como lo están de humo las chimeneas de la misma capital.

La deducción que criticamos da lugar, además, á las siguientes preguntas: ¿Por qué cuando la infusión orgánica esterilizada se expone al aire ópticamente puro, la generación de la vida *de novo* cesa totalmente? ¿Por qué se conserva la infusión de nabo al lado de la salina durante los 365 días del año en una atmósfera que sólo tiene por condición el tener que ponerse en contacto con los líquidos, la de estar privada de su polvillo flotante, mientras que tres días de exposición al aire conteniendo materias en suspensión, son suficientes para que parezcan los bacterios? ¿Acaso nuestro modo de razonar es incomprensible, ó es que no está al alcance de todos?

Vamos ahora á proceder al exámen reflexivo y minucioso de otro asunto más importante todavía que el que acabamos de tratar, pero algo más difícil de dilucidar por razón de la abundante fraseología lógica y retórica, con la cual se ha presentado. Nos referimos á lo que se ha convenido en llamar *el momento de muerte de los bacterios.* Los que se hallan al corriente de la cuestión se acordarán cuantos disgustos ha proporcionado á los panspermistas en general y á uno ó dos observadores en particular. Es el gran caballo de batalla de los heterogenistas ingleses. «El agua, dicen éstos, está en plena ebullición »sobre el fuego; cuando algún desgraciado la »vierte de tal modo que parte de ella ejerce »su acción sobre una parte descubierta del »cuerpo,—mano, brazo ó cara, poco importa »—no deja lugar á duda: el agua ejercerá evi»dentemente un efecto destructor más rápido »sobre la materia de que estamos forma»dos (1)».

Y para que no se diga que es á nuestra organización elevada á lo que se debe atribuir el fenómeno, invocan la acción del agua hirviendo sobre un huevo. «La conclusión, »dicen, se impone por sí misma: el agua hir»viendo ejerce una acción deletérea sobre la »materia viva, sea de una organización infe»rior ó elevada (2).» Añadiendo aún: «Está »demostrado que por corta que sea la exposi»ción de la materia viva á la influencia del »agua hirviendo, ésta es destructiva para »ella (3)».

(1) *Proceedings of the Royal Society*, vol. XXI, página 130.

(1) Bastian, *Evolución*, pág. 133.
(2) Id., pág. 135.
(3) Id., pág. 46.

Los experimentos á que nos hemos referido antes de ahora demuestran que hay una gran diferencia con respecto á esto entre las materias bacterídicas secas del aire y los bacterios húmedos, blandos y activos de la putrefacción. Estos pueden desarrollarse perfectamente en una solución salina, aquellos no, mientras que ambos pueden existir en una infusión de nabo esterilizada. Ya hemos visto que la lógica científica impide sacar deducciones de la manera de obrar de uno de los líquidos relativamente al otro. Pues esto precisamente es lo que los heterogenistas hacen, al repetir, tratando del *momento de la muerte de los bacterios,* el mismo error en que cayeron al ocuparse de los gérmenes del aire.

Hagamos hervir una solución mineral enturbiada ó cubierta de bacterios, durante cinco minutos. En el estado de blandura en que se hallan en dicho líquido, ni uno sólo dejará de perecer. Y lo propio sucedería con la infusión de nabo, estando solamente inoculada con bacterios vivos y exentos del polvillo flotante en el aire. En ambos casos los organismos muertos van á parar al fondo del líquido, en el seno del cual no se ven aparecer de nuevo; para ello sería necesaria una segunda inoculación. Pero las cosas pasan de distinta manera cuando infectamos la infusión de nabo por medio de la materia germinativa desecada flotante en el aire.

El *momento de muerte de los bacterios* es, pues, el máximum de temperatura en la cual pueden vivir; ó lo que es lo mismo: la temperatura mínima en la cual cesan de vivir. Si suponemos que sobreviven á una temperatura de 140° y no á una de 150, el *momento de muerte* estará en algún grado intermedio entre los indicados.

Los señores Broidwood y Vacher han demostrado, por ejemplo, que la vacuna se halla privada de su poder de infección tan pronto como se la expone á una temperatura comprendida entre 140 y 150° Fahr., por corta que sea la duración de tal exposición. Esta impotencia debe ser mirada como el *momento de muerte* de la vacuna, ó mejor dicho de las partículas esparcidas en la vacuna, las cuales constituyen el verdadero contagio. Sin embargo, si se hace caso omiso de la duración de acción del calor, la noción *momento de muerte* queda en el vacío. Una infusión que resistirá cinco horas de ebullición continua, sucumbirá después de estar sometida durante cinco días á una temperatura de 50° Fahr., inferior á la de ebullición.

Los bacterios blandos completamente desarrollados de los líquidos en putrefacción, no quedan destruídos sólo por una ebullición de cinco minutos, sino que hasta un minuto es suficiente: mueren, por otra parte, generalmente á la misma temperatura que la vacuna; y lo propio sucede con los bacterios activos de una infusión de nabo (1).

Pero en vez de escoger un líquido en putrefacción preparemos substancias infecciosas de la manera siguiente: Tomemos un hacecillo de heno desecado, por ser viejo, y coloquémosle en un vaso lleno de agua: inoculemos seguidamente una infusión de nabo perfectamente esterilizada, con dicha agua. Después de tres horas de ebullición continua, la infusión así infectada presentará todavía una vida bacterial lujuriante. Lo propio sucederá con una infusión de nabo preparada en una atmósfera cargada de gérmenes del heno. Aquí la infusión se infecta á sí misma sin inoculación especial, y su resistencia subsiguiente á la esterilización es á menudo muy grande.

El día 1.° de Marzo de aquel mismo año, Tyndall infectó intencionalmente el aire de su laboratorio con el polvo germinativo de una especie de heno desecado que había sido recolectado en 1875. Diez grupos de frascos se cargaron con una infusión de nabo preparada en el propio laboratorio infectado, y se sometieron á una ebullición distinta de variados periodos de tiempo que fueron de 15 á 240 minutos. De los diez grupos sólo uno quedó esterilizado, el que había sido hervido durante cuatro horas. Todos los frascos de los

(1) Tyndall en su memoria publicada en sus *philosophical transactions* para 1876, indicó ya las diferencias existentes por lo que atañe á la rapidez del desarrollo, entre los gérmenes del aire y los del agua; el crecimiento de estos últimos ya humedecidos es mucho más rápido. Esta preparación de los gérmenes para un desarrollo de corta duración se halla relacionada, por otra parte, con una mayor facilidad de destrucción.

nueve grupos que habían hervido durante 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 y 180 minutos respectivamente, engendraron organismos algún tiempo después. El resultado hubiese sido el mismo empleando otra infusión vegetal cualquiera.

El 28 de Febrero, por ejemplo, se hirvieron seis frascos que contenían una infusión de cohombro preparado en una atmósfera infecciosa durante los periodos de 15, 30, 45, 60, 120 y 180 minutos. Todos los frascos desarrollaron organismos poco tiempo después. El mismo día se prolongó la ebullición de tres frascos hasta 240, 300 y 360 minutos, y los tres quedaron estériles. Las infusiones animales, que en circunstancias ordinarias quedan infaliblemente estériles con cinco minutos de ebullición, se conducen como las infusiones vegetales así que se preparan en una atmósfera infestada por gérmenes de heno. Así, el 30 de Marzo cinco frascos se cargaron con una infusión clara de vaca y fueron hervidos durante 60, 120, 180, 240 y 300 minutos respectivamente. Cada uno de ellos se pobló de organismos poco después, y el experimento se repitió de la misma manera en una infusión de carnero preparada al propio tiempo. Los casos de resistencia á la esterilización se cuentan por miles y se reproducen con infusiones las más diversas.

Ante tales hechos, preguntaremos á *nuestro amigo* si juzga todavía necesario insistir por más tiempo en el justo valor de la prueba, después de la cual se ha afirmado que toda materia viva es destruída por *la exposición á la acción del agua hirviendo por corta que sea la duración de la supradicha exposición*. Una infusión que ha permanecido estéril durante una exposición de seis meses al aire ópticamente puro, tan pronto como se inocula con bacterios activos, se cubre en dos días de organismos tan sensibles, que pueden destruirse con una exposición de algunos minutos á una temperatura muy inferior de mucho á la del agua hirviendo. Pero la extensión de este resultado á la materia germinativa desecada, no tiene razón de ser ó justificación. Esto es evidente hasta sin salirse del propio razonamiento. Pero nosotros hemos ido aún más allá y hemos probado con numerosos experimentos que la destrucción de la materia viva *por la más corta exposición á la acción del agua hirviendo* es una pura ilusión. Todo el edificio construído sobre esta base cae, pues, de un solo golpe; y el razonamiento por el cual se pretende que los bacterios y sus gérmenes destruídos á 140° Fahr., si los primeros aparecen después de una exposición á 212°, deben ser espontáneamente engendrados, queda para siempre, según nuestro parecer, reducido á cero.

Durante el curso de sus investigaciones y á causa de las infinitas precauciones tomadas, variaciones y repeticiones verificadas para obtener la comprobación de los resultados, Tyndall empleó durante los dos años que aquellas duraron, cerca de *dos mil vasos*.

Además del interés filosófico inherente al problema del origen de la vida, interés que será siempre inmenso, se junta otro no menos importante: el de la aplicación de nuestras teorías á la cirugía y á la medicina. El sistema antiséptico á que hemos aludido ya ligeramente, demuestra de un modo claro y palpable á lo que pueden conducir tales teorías científicas, nacidas de semejantes experimentos.

La cirugía en otro tiempo sólo era un arte, y hoy se ha convertido ya en una ciencia. Antes de la introducción del sistema antiséptico, reflexionando un poco, el cirujano no hubiera dejado de comprender empíricamente que existe *algo* en el aire que á menudo destruye los esfuerzos de la consumada habilidad del operador. Este *algo* el tratamiento antiséptico lo destruye ó lo neutraliza, convirtiéndolo en inofensivo. En *Kings' College* M. Lister opera y sonda mientras que hace descender sobre la herida una finísima lluvia de cierta mezcla de ácido carbónico, estando las vendas y demás objetos empleados saturados de ácido fénico con antelación. En *Saint-Bartholomew's* M. Callender emplea también el ácido carbónico, pero no en forma de lluvia. Por otra parte, en lo que concierne al fin de atajar ó impedir que las lluvias se conviertan en nidos de bacterios, lo que se practica en ambos hospitales es lo mismo. El sistema antiséptico, recomendándose por sí mismo á los espíritus científicos de la época, tal cual ha

sabido hacerlo en poco tiempo, ha echado hondas raíces en Alemania.

La extensión que el interés del asunto tratado nos ha hecho dar á este capítulo, nos impide, como sería nuestro deseo, exponer las actuales relaciones existentes entre la teoría de los gérmenes y las enfermedades infecciosas, distinguiendo desde luego los razonamientos basados en la analogía,—que son, sin embargo, de un gran valor,—de los fundados en la observación. Hubiéramos querido dar á conocer, como lo verificó Tyndall en la *Fornightly Review* (Noviembre de 1876), las excelentes investigaciones de un médico joven, apenas conocido hace cinco años y ya de gran renombre en la actualidad, Kock (1), acerca la fiebre esplénica, y relacionarlo con lo escrito recientemente por Pasteur sobre el propio asunto. Veríamos desarrollarse ante nosotros un contagio vivo dotado de un poder mortal, contagio del cual podríamos seguir el ciclo completo de evolución (2). Lo encontramos en la sangre, ó en el bazo de un animal enfermo, bajo la forma de pequeños anillos inmóviles.

Cuando dichos anillitos se colocan ante el microscopio en un líquido nutritivo, se les ve pronto alargarse en forma de filamentos, que algunas veces se colocan unos al lado de otros, desarrollándose de la manera más chocante, ó, por último, formando nudos inextricables.

Vemos, por último, resolverse dichos filamentos en esporos innumerables que llevan la muerte en sí mismos, y siendo fáciles de confundir con los gérmenes inofensivos del *basillus subtilis*.

El bacterio de la fiebre esplénica ha sido denominado *bacillus anthracis*. Las recientes investigaciones de Pasteur acerca los fenómenos que dicho *bacillus* cumple patológicamente, son los trabajos más notables de cuantos ha practicado este hombre eminente. Infinitos observadores cayeron en los más deplorables errores, habiendo emitido conclusiones opuestas que se anulaban recíprocamente.

Colaborando Pasteur con un joven fisiólogo de talento, M. Jubert, llegó al centro del caos y lo transformó pronto en armonía. Entre otras cosas, demostró que, en los casos en que otros observadores franceses no habían creído tener que luchar más que con la fiebre esplénica, otro virulento factor entraba simultáneamente en juego. La fiebre esplénica está á menudo complicada con la septicémica, y los resultados obtenidos en el estudio de esta última enfermedad han sido á menudo aplicados á la primera.

Combinando convenientemente ambos factores todas las irregularidades desaparecen y los resultados reciben su justa aplicación. Se admira uno de la verdad que encierran las frases de Pasteur, haciéndose cargo de lo que dice en su memoria presentada á la Academia acerca las dificultades que experimenta el observador al emprender cualquier clase de investigaciones: «Tantas veces he observado, dice, que en el arte difícil de la experimentación los más hábiles prácticos se engañan á cada paso, que no me extraña que la interpretación dada á ciertos hechos siga el propio derrotero yendo de error en error (1).

---

(1) Véase el anterior artículo acerca la fermentación.

(2) Dallinger y Drysdale ya han demostrado, por medio de sus interesantes investigaciones acerca la historia de las mónadas, cuanto puede alcanzar la paciencia y el cuidadoso trabajo.

(1) Memorias, t. LXXXIII, pág. 177.

CAPÍTULO VI

EXPERIMENTOS PRESENTADOS Á LA SOCIEDAD REAL DE LONDRES

Por razones que luego indicaremos será conveniente echar una ojeada sobre los resultados presentados al principio á la Sociedad Real.

Tyndall consagró una gran parte del otoño de 1875-76 á la primera parte ó sección de sus investigaciones, y el 13 de Enero de 1876 comunicó los principales resultados de ellas oralmente á la citada Sociedad Real. La memoria completa se remitió á la misma en 6 de Abril y se publicó en el CLXVI volumen de las *Philosophical Transactions*.

Un gran número de cámaras herméticamente cerradas durante el curso de las mencionadas investigaciones se presentaron el 13 de Enero á la consideración de los miembros de dicha Real Sociedad. Serían en junto más de 50, y la mayor parte de ellas habían servido para varios experimentos. El aire de las citadas cámaras se había purificado por sí mismo á causa del reposo en que se dejaron, y no se empleó ningún medio artificial para volverle ópticamente puro. Varios líquidos orgánicos, comprendiendo las más variadas infusiones, fueron expuestos á dicho aire espontáneamente purificado, y según el examen microscópico se hallaron libres completamente de organismos cualesquiera, como también sin aquellas señales que indican su presencia, como son el enturbiamiento, la espuma, el moho, etc.

Dichos experimentos se verificaron, entre otras, con las infusiones siguientes: orina natural, vaca, carnero, puerco, heno, nabo, lenguado, salmón, bacalao, rodaballo, arenque, mujol, anguila, ostra, merluza, hígado, riñones, liebre, conejo, faisan y gallo silvestre.

El número de vasos aislados que contenían esos líquidos se elevaba á algunos centenares, y los resultados que dieron fueron siempre en el sentido previsto de antemano.

En todas las operaciones bastaron cinco minutos de ebullición para esterilizar toda clase de infusiones.

Cuando, después de haber dejado durante muchos meses las infusiones estériles en el interior de las cámaras, se procedía á abrir las puertas de éstas, permitiendo que el aire

impuro del laboratorio entrara y tomara libre posesión de aquellas, seguidamente aparecían en abundancia organismos: éstos se componían sea exclusivamente de bacterios, ó mohos, ó de una mezcla de ambos.

Las infusiones de las substancias antecitadas se expusieron luego á la acción del aire, privado de antemano de dichas materias en suspensión, por la filtración á través de la uata; después á la acción del aire, del cual se habían destruído las partículas por medio de la calcinación; y en fin, al vacío que se hizo lo más completamente posible en grandes recipientes precedentemente llenos de aire filtrado.

Hervidas durante cinco minutos y sometidas á la acción del aire así tratado, ó á la del vacío así producido, ninguna de dichas infusiones mostró en lo sucesivo la más ligera alteración, sea de color ó transparencia á simple vista, ó por medio del microscopio la menor apariencia de vida.

Tales son, en resumen, los resultados obtenidos con el aire espontáneamente purificado, con el aire filtrado, con el aire calcinado y con el vacío producido por medio de una bomba de aire, estando contenidos los líquidos en tubos de ensayo.

Seguidamente se emplearon pequeños frascos de cnello encorvado, alargado y adelgazado: cargados de infusiones fueron hervidos en el aceite ó en una solución salina, y cerrados con minucioso cuidado durante la ebullición. En la sesión de la Sociedad Real del día 13 de Enero de 1876, *ciento treinta frascos* de esa clase fueron sometidos á la inspección de los miembros, á fin de demostrarles evidentemente que estaban libres de putrefacción ó de vida. Las infusiones que contenían eran de las substancias antes mencionadas y aún de otras.

En una palabra, el resultado de los seis meses de asíduos trabajos practicados por Tyndall durante el otoño, invierno y primavera de 1875-76, fué que en las condiciones atmosféricas entonces existentes en el laboratorio de la Institución Real, ni uno solo de los centenares de frascos ensayados dejó de esterilizarse con cinco minutos de ebullición: y todavía más, que una vez obtenida la esterilización, *jamás pudo observarse hecho alguno que diese lugar á suponer se había dado un solo caso de generación espontánea*.

El resultado de las observaciones últimamente unidas á aquella memoria por el propio Tyndall y sometidas también á la consideración de la Sociedad Real, se refiere á las que fueron principiadas en el verano de 1876, relativas á determinadas infusiones de nabo más ó menos mezcladas con queso. Se emplearon siete clases de este último, y se expusieron cincuentisiete tubos cargados con dicha mezcla, á la acción del aire expontáneamente purificado, en cámaras herméticamente cerradas.

La mayoría de tubos quedaron inalterados: otros se llenaron de organismos cuya existencia, según parecer del mismo Tyndall, debe ser explicada por la acción protectora del queso. En la memoria, de la cual hemos extractado los principales hechos, afirma Tyndall que dicha acción está probada por el hecho que cuando los granos de mostaza se reunen ó juntan en un saco de calicot, resisten á la ebullición durante un tiempo que bastaría para destruirlos estando aislados. El saco y los granos exteriores protegen á los que están colocados en el centro.

No solamente se ha de tener en cuenta la temperatura, sino también la difusión, cuando se trata de destruir los gérmenes por la acción del agua. Sin difusión puede un gérmen resistir á temperaturas, que lo destruirían de existir aquélla. Es inútil insistir acerca la impermeabilidad del queso en el agua, y por consiguiente, acerca de su poder de prevenir toda difusión.

Por lo demás, aquellos experimentos verificados con infusiones de queso y nabo mezclados, no fueron más que un ensayo que se propuso Tyndall completar ulteriormente.

Durante el otoño de 1876 se renovaron los experimentos verificados con infusiones de heno, las cuales había Tyndall intencionalmente diferido hasta dicha época. En las primeras investigaciones sobre dicha substancia no se había presentado ninguna dificultad. Hervida la infusión de heno durante cinco minutos y expuesta al aire espontáneamente purificado ó privado de materias en suspen-

sión, por la calcinación ó por la filtración, aunque ensayada en circunstancias muy diversas, no mostró jamás la menor aptitud para el desarrollo de la vida. Un gran número de veces, después de varios meses de transparencia, se inoculaba dicha infusión con líquidos animales ó vegetales que contenían bacterios y se observaba siempre la variación de color veinticuatro horas más tarde y la opacidad por la aglomeración de organismos en la masa.

Pero durante el otoño de 1876 la substancia cuya experimentación hasta entonces había dado un resultado favorable varió por completo: las infusiones obtenidas resistieron no cinco, sino quince minutos de ebullición, impunemente. El cambio de heno que se ensayó dió por resultado las más diversas diferencias: un gran número de infusiones de porciones del heno comprado durante el otoño del expresado año se portaron exactamente como las extraídas del heno en 1875 ó sea el año anterior, esterilizándose con cinco minutos de ebullición: pero otras no.

La influencia posible de la antigüedad ó del estado de desecación de los henos se presentó inmediatamente á la imaginación de Tyndall, el cual redobló las investigaciones para aclarar dicha cuestión por medio de repetidos experimentos con heno procedente de distintos puntos, y por ese medio llegó á comprender, casi desde los primeros nuevos ensayos, que todas cuantas infusiones habían presentado una resistencia desacostumbrada á la esterilización, procedían invariablemente de los *henos viejos;* mientras que las variaciones ofrecidas por los frescos procedían, sin duda, de que los gérmenes inherentes á ellos no habían sido sometidos á una desecación prolongada. Pero se hacían necesarios una infinidad de experimentos para aclarar el hecho, y en vista que á pesar de los muchos repetidos la distinción entre el viejo y el fresco heno se aclaraba cada vez menos, no pudiendo Tyndall salir de la incertidumbre, echó mano de substancias de naturaleza suculenta,—de las setas, cohombro, melón, remolacha, alcachofa y otras cuyos gérmenes debían temer poco la desecación.

Hervidas durante periodos variables de cinco á quince minutos y expuestas enseguida á la acción del aire ópticamente puro, dichas infusiones se llenaron de organismos y se cubrieron generalmente de espuma.

Ante semejante resultado se echó mano de las infusiones que hasta entonces se habían presentado menos refractarias á la esterilización. Pescado, carne y vegetales fueron de nuevo sometidos á ensayo. Aunque las precauciones tomadas fueron mucho mayores que las practicadas en las primeras investigaciones, y aunque la duración de la ebullición fué siempre superior, dichas infusiones cedieron casi en todos los casos. Tanto el aire espontáneamente purificado, como el filtrado y el calcinado (calcinado ahora, se puede muy bien asegurar, con mayor cuidado y atención que antiguamente), fueron por lo general impotentes para proteger las infusiones de la putrefacción.

Algunas veces un buen resultado obtenido hacía dudar de los demás, achacando quizás á la impericia ó descuido, el mal resultado obtenido en otros ensayos; pero la continuación de las operaciones ó experimentos era muy á menudo totalmente opuesta á los resultados primitivos, lo cual demostraba que más bien debía considerarse á estos últimos como accidentales.

Tyndall tenía completa confianza en los resultados de sus primeros experimentos, puesto que de no ser correctos, las consecuencias habían de ser completamente distintas de las demás entonces obtenidas. Los errores de manipulación habrían llenado los frascos de organismos en lugar de dejarlos transparentes y libres de vida. No quedaba, pues, con respecto á los experimentos de resultados fracasados, más que un dilema, á saber: ó las infusiones de pescado, carne y vegetales estaban dotadas en 1876 de un poder de generación espontánea que no tenían en 1875, ó algún nuevo contagio exterior á las infusiones y de una naturaleza mucho más tenaz que el del 75 había invadido el interior de aquellas en los nuevos experimentos. Todo el que posea un claro talento, todo hombre científico, creemos que no dudará entre ambas hipótesis.

En cuanto á nosotros, la reflexión y la ex-

periencia nos inducen á creer que la atmósfera en la cual tenían lugar los últimos experimentos debía de ser mucho más infecciosa que la otra en que se practicaron los primeros. He ahí porque el profesor Tyndall abandonó el laboratorio y repitió sus ensayos tan pronto arriba como abajo del edificio de la Institución Real: pero á pesar de las precauciones que con mayor motivo que nunca tomó, se repitió de nuevo lo mismo. Entonces fué cuando tomó la resolución de separar cuantas causas de infección pudiesen proceder tanto de la construcción de las cámaras como del tratamiento de las infusiones: y al efecto abandonó la Institución Real y partió en busca de una atmósfera menos infecciosa.

Gracias al presidente de la Sociedad Real, pudo hallar en el jardín de Kew, todas las condiciones requeridas. Se recogieron para ensayo en el nuevo laboratorio de Jodrell las infusiones que más refractarias se habían presentado en la Institución Real, y el resultado fué que aquellos mismos líquidos que en la calle de Albemarle habían resistido hasta á doscientos minutos de ebullición, habiéndose, á pesar de todo, poblado de organismos, se esterilizaron por completo en Kew sólo con cinco minutos de estar sometidos á la propia ebullición.

Hénos pues, frente á frente á otro dilema: ó en el jardín de Kew las infusiones han perdido el poder de generación espontánea que poseían en la Institución Real, ó el notable fenómeno del desarrollo de la vida después de una ebullición por largo tiempo continuada, debe ser debida á un contagio contenido bien en el aire, bien en los vasos del laboratorio.

Con objeto de poder comparar los experimentos recientes con los anteriores en un sitio lo más aproximado posible al laboratorio de la Institución Real, se construyó una especie de choza sobre el tejado del citado edificio. Preparadas las infusiones é introducidas en nuevas cámaras de estaño que se hicieron conducir directamente á dicho sitio, se hicieron hervir los líquidos, después de su introducción, durante cinco minutos, en un baño de aceite.

Desde el primer experimento practicado en dicho punto principió de nuevo la decepción: ni una sola de las infusiones expuestas á aquel aire relativamente puro, escapó á la infección.

Una de las dos causas siguientes, ó quizás las dos á la vez, pueden haber sido causa de semejante resultado: En primer lugar una chimenea del laboratorio estaba en comunicación con la atmósfera no lejos de la choza; luego, y esto tal vez fué la causa de la infección, los preparadores habían ido á la choza directamente del laboratorio sin ninguna precaución, así es que sin duda habían conducido el contagio por un medio de transporte muy conocido de los médicos.

Dicha choza fué desinfectada, las infusiones preparadas de nuevo y se tomaron precauciones especiales, como por ejemplo el cambio de vestidos y otras. El resultado fué parecido al obtenido en Kew, esto es, que los líquidos orgánicos que en el laboratorio resistieron á doscientos minutos de ebullición, quedaron para siempre estériles en cinco minutos.

La consecuencia que de ello se desprende es evidente: vamos á permitirnos, por lo tanto, precisarla una vez más, á fin de aclarar las dudas que acaso podrían existir en algunos. Supongamos que una varita de treinta pies de longitud está fijada á las infusiones del laboratorio y de la choza por sus extremos: en uno de ellos dichas infusiones quedan esterilizadas con cinco minutos de ebullición y en el otro resisten á un periodo de doscientos minutos. Como anteriormente, la elección queda reducida á una de las dos deducciones: ó sacamos la consecuencia de que en uno de dichos extremos las infusiones gozan de un poder de generación espontánea que no poseen en el otro, ó tenemos que admitir que en uno de aquellos extremos el aire es infeccioso y en el otro no.

Esta última deducción será la de todo hombre de talento ó de ciencia. ¿Cómo explicaremos entonces las diferencias existentes en cada uno de los extremos de la varita con relación aquel año del anterior en un mismo gabinete? Muy sencillamente: está claro que la atmósfera del laboratorio era totalmente distinta este año de la del anterior, en el cual se practicaron los primeros experimentos. En

el suelo de la sala se hallaban diseminadas varias partículas de heno que así que se movían volaban por el aire, en el cual quedaban en suspensión. Pues esta clase de polvillo se muestra fecunda y resistente al más alto grado. Además, antes de la introducción del heno en el laboratorio, jamás hubo la menor contradicción ni dificultad en la esterilización: después de su introducción, por el contrario, principiaron á aparecer las contrariedades sin término.

Ya hemos hablado de los periodos de ebullición de doscientos minutos. Habiéndose, en efecto, experimentado distintas veces la ineficacia de períodos de ebullición cortos, se fueron aumentando gradualmente hasta alcanzar á 360 minutos. De tal manera se observó que hasta cierto punto los líquidos conservaban el poder de desarrollar la vida, pero que más allá quedaban perfectamente estériles. En dos experimentos preliminares relativos á este objeto el punto de esterilización se halló situado entre 180 y 240 minutos. Hervidas durante el primero de dichos períodos, las infusiones continuaron fecundándose: hervidas durante el último, quedaron indefinidamente estériles.

Terminaremos transcribiendo lo expuesto por el propio Tyndall en la memoria presentada en 1877 á la Sociedad Real (1). Dice así:

«Durante el curso de mis experimentos empleé un método cuyos primeros lineamientos se hallan en los escritos de Spallanzani y de Needham y en los más recientes de Wyman y del doctor Roberts, habiendo sido muy perfeccionado por este último sabio. Los frascos fueron parcialmente llenos de infusiones y las partes no ocupadas por el líquido abandonadas al aire ordinario no filtrado. Ya sabemos que el *momento de la muerte* del contagio es mucho más elevado en el aire que en el agua, de modo que una temperatura fatal á los gérmenes contenidos en el último de esos medios, puede ser inofensiva para los encerrados en el primero: de ahí resulta que la resistencia observada en mis últimos experimentos podía proceder de que una parte de los gérmenes no estaba sumergida en el líquido.

»Modifiqué entonces el método y emprendí una larga tarea de experimentos con el agua filtrada: fueron casi todos tan ineficaces como los practicados con el aire ordinario. De tiempo en tiempo logré producir una esterilización completa con cinco minutos de ebullición, pero este resultado no significaba nada, puesto que pronto era declarado casual por otros resultados contradictorios que me obligaban á considerarle tal, esto es, no como un argumento á mi favor, sino solamente como una excepción. Sin embargo, no era indiferente del todo observar dichos fenómenos, pues me revelaron que en determinadas circunstancias, que casi de antemano se podían prever, el contagio era destruído.

»Una rápida ojeada acerca los medios empleados para perfeccionar los métodos experimentales y acerca los resultados á que condujeron, se hallará bien en este lugar. Verificado el vacío en algunas bolas por medio de una bomba de aire y calentadas inmediatamente casi al rojo, se llenaron de aire filtrado una vez frías. Durante la introducción en ellas de las infusiones, se volvían á calentar de modo que produjeran una ligera salida de dicho aire, y su cuello se cerraba durando todavía la corriente de salida establecida. Por este medio procuré cortar el contagio que hubiera acaso podido tener lugar con la introducción natural del aire exterior.

»Las contrariedades obtenidas por medio de semejante método experimental, fueron mucho mayores que los resultados buenos.

»Tomé en su vista bolas idénticas, pero alargué, adelgazándolo, su cuello hasta volver su extremo capilar. Enseguida llené las bolas de aire filtrado á la presión de $^1/_3$ de atmósfera, y mientras estaban todavía en conexión con la bomba de aire, las calenté casi al rojo. Inmediatamente se cerraron los tubos capilares con auxilio de la lámpara y se quebraron al interior de las infusiones los extremos cerrados, hallándose las dos terceras partes de las bolas llenas de líquido. Con muchísimo cuidado fué posible volver á

(1) Proceedings of the Royal Society, 1877.

cerrar de nuevo los tubos capilares sin retirarlos de aquél. Por fin, las infusiones fueron hervidas durante cinco minutos.

»Esta vez aún la fecundidad fué la regla y la esterilidad la excepción.

»Un motivo de error se presentaba constantemente á mi pensamiento durante el curso de estos experimentos. Ignoraba de donde procedía aquel desarrollo de vida: ¿sería acaso debida al líquido adherido al cuello y á la superficie superior de las bolas? Dicho líquido podría evaporarse y, estando entonces sus gérmenes circuídos de aire en vez de agua, resistir eficazmente á una temperatura que los hubiera destruído si hubiesen estado sumergidos.

»Se tomaron pues toda clase de precauciones, á fin de hacer llegar las infusiones al interior de las bolas, lo cual tuvo lugar por medio de un tubo lateral que terminaba en el centro de aquellas. Lo mismo que anteriormente, las bolas se llenaron á la presión de $^1/_3$ de atmósfera, con aire filtrado, y se calentaron enseguida casi al rojo. Así que las bolas estuvieron completamente cargadas, el líquido se elevó hasta rebasar el orificio central, de modo que ninguna parte de la superficie interior estaba mojada en los puntos donde el líquido no tenía que quedar en contacto permanente con ella. El tubo lateral se cerró inmediatamente por medio de la lámpara, y esto sin que ninguna parte del líquido hubiese estado en contacto con el aire exterior. De este modo estaba yo absolutamente seguro de que si los efectos del contagio se manifestaban todavía, debía buscarse éste no en el aire contenido en el vacío superior, ni en la superficie interior de las bolas, sino en las mismas infusiones.

»Ensayé primero por este método las substancias que habían llamado mi atención, y á las cuales yo atribuía la diferencia entre los resultados obtenidos en 1875-76 y en 1876-77; me refiero al heno viejo que pululaba por el suelo del laboratorio.

»Cuatro horas de ebullición continua no lograron esterilizar las bolas cargadas con infusiones de dicho heno. Además, en otros casos especiales los gérmenes se presentaban tan endurecidos y tan resistentes, que cinco, seis y hasta ocho horas, tampoco lograron privarles de vida.

»Todas las dificultades observadas durante esas prolongadas y laboriosas investigaciones, se reconoció ser causadas por el extraordinario poder de resistencia que acabamos de mencionar. Dichos gérmenes fueron un verdadero azote introducido en nuestro laboratorio, siendo las otras infusiones, exactamente como en una epidemia, víctimas de un contagio extraño por completo á ellas (1).

»Es un asunto de verdadero interés para el cirujano el saber como esos gérmenes extraordinariamente resistentes obran ante los ordinarios procedimientos de desinfección. De mis experimentos se desprende que ofrecen una resistencia tenaz á la acción del calor. Pero, ¿qué sucedería en las salas de los hospitales?... Existen también establecimientos consagrados á la preservación de las carnes y de las legumbres, interesadas en este asunto. Semejantes accidentes ¿tienen alguna vez lugar?... Estoy persuadido que sería suficiente sacudir un hacecillo de heno en las salas de preparación de esos establecimientos, para que fueran inútiles las ebulliciones habituales de algunos minutos, que se practican al efecto, y para que fuese causa de grandes perjuicios. Sin embargo, como veremos luego, esas industrias tienen un gran auxiliar en el hecho de que en ellas se extrae completamente el aire de sus cajas de conservas.

»Observando dichos gérmenes y teniendo en consideración las fases por que atraviesan para llegar al estado de organismos adultos, es como he logrado esterilizar las infusiones más resistentes, y esto por medio de la calefacción durante un período reducido de tiempo, considerado anteriormente como insuficiente para esterilizarlas. Los bacterios completamente desarrollados son fácilmente destruídos á una temperatura de 140° Fahr. Fijando mi atención en el germen, durante su evolución del estado duro y resistente, al estado plástico y sensitivo, me pareció en alto grado

(1) «Un heno duro de Guildford, que yo no tenía ningún motivo para considerarlo viejo, fué extremadamente difícil esterilizarlo».

probable que dicho estado plástico se extinguiría en los diferentes gérmenes, con diferentes períodos de tiempo de calefacción.

»Algunos están más endurecidos que otros y reclaman para ablandarse y germinar, una inmersión más duradera: pues para todos los gérmenes conocidos existe un período de incubación, durante el cual se preparan para su paso al estado de organismos definidos, en cuyo estado son muy sensibles á la acción del calor. Si durante este período se hace hervir la infusión solamente durante una fracción de minuto, los gérmenes ablandados que se aproximan á la face final de su desarrollo quedarán destruídos. Repitiendo esta manera de calefacción todás las diez ó doce horas antes que el menor cambio *sensible* haya podido tener lugar en la infusión, cada ebullición destruirá los gérmenes en el momento de estar preparándose para la transformación y después de cierto número de operaciones, toda materia viviente habrá desaparecido.

»Guiado por este principio y aplicando la calefacción discontinua, he esterilizado varias infusiones en una serie de tiempos parciales, cuya suma, cincuenta veces multiplicada, hubiera sido insuficiente para producir el mismo efecto con una calefacción continua. En ciertos casos, cuatro minutos bastan para producir lo que cuatro horas no pueden hacer en otros.

»Convenientemente aplicado el método de esterilización que acabamos de describir, es *infalible*. Además, una temperatura inferior de mucho á la de ebullición es suficiente para la esterilización.

»Otro método igualmente infalible se impuso, por decirlo así, á mí mismo, de la siguiente manera: en multitud de casos una espesa capa de espuma grasienta formada por una aglomeración de bacterios cubría la superficie de las infusiones. El líquido de debajo estaba á veces nebuloso, pero lo más á menudo estaba tan límpido como el agua destilada. La capa viviente de espuma, como ha demostrado Pasteur después, parecía poseer el poder de interceptar completamente el oxígeno atmosférico, apropiándose este gas y privando con ello á los organismos inferiores de semejante elemento tan necesario para su desarrollo.

»Colocando las infusiones en frascos y disponiendo una gran cámara de aire encima del líquido, tapando los frascos y exponiéndolos durante algunos días á una temperatura de 80 á 90° Fahr. se ve al cabo de dicho tiempo que el oxígeno del aire ha sido casi totalmente absorvido. Un fósforo encendido introducido en el frasco, se apaga inmediatamente. Además, encima de la espuma la superficie interior de las bolas de que me serví en mis experimentos estaba constantemente humedecida por el agua de condensación. En esta agua se encontraban á veces bacterios formando una especie de película transparente á una pulgada ó dos encima del líquido. En una palabra, en todas partes donde existía aire se veían bacterios. Parece ser una necesidad de su existencia. Era pues natural formular la siguiente pregunta: ¿Qué sucedería si se privara de aire á las infusiones?

»Yo no quise contentarme con una deducción por respuesta á dicha pregunta, pues Pasteur ha demostrado sobradamente que en el fenómeno de la fermentación alcohólica se produce una especie de vida sin aire, y además otros organismos, á más de la *torula*, están también indicados con la posibilidad de poder vivir careciendo de oxígeno. Por lo tanto, solamente el experimento podía determinar los efectos de la vida en los organismos de que nos ocupamos.

»El vacío por medio de la bomba de aire fué pues empleado y dió excelentes resultados. La vida fué considerablemente debilitada con tal procedimiento.

»En vista de ello me serví inmediatamente de la bomba Sprengel, á fin de efectuar mejor dicho vacío tanto encima como debajo de las infusiones. Los períodos de vida variaron de una á ocho horas, y los resultados obtenidos pueden resumirse como sigue: si fuese posible extraer por completo el aire de las infusiones, es probable que *sin ninguna ebullición* la vida quedaría extinguida por completo. Pero pasando de las probabilidades á las certidumbres, se puede decir que en cierto número de casos algunas infusiones no hervidas y privadas de aire por cinco ó seis

horas de vacío efectuado por medio de la bomba Sprengel, quedaron indefinidamente estériles.

»En un gran número de casos también, cuando las infusiones no hervidas se habían vuelto nebulosas, un simple minuto de más bastaba para destruir la vida ya próxima á extinguirse por la falta de aire. Exceptuando una sola vez, yo jamás he observado que pueda una infusión dejar de esterilizarse después de una ebullición de cinco minutos, cuando de antemano se haya procurado efectuar el vacío con una bomba Sprengel. Dichos cinco minutos producían un efecto que hubieran sido impotentes á producir cinco horas existiendo aire.

»La excepción que acabamos de citar se refiere á una infusión de heno viejo que, aunque esterilizada en menos de la mitad de tiempo necesario para destruir sus gérmenes existiendo aire, conservó un débil poder, pero claro, distinto, de desarrollar la vida después de haber sido hervida durante un período muchas veces suficiente para dejar indefinidamente estériles otra clase de infusiones, como por ejemplo las de vaca, carnero, puerco, cohombro, nabo, remolacha, alcachofa y otras.

»Estos experimentos me dieron la clave de muchos otros que pueden fácilmente hallarse sujetos á una falsa interpretación. En medio de la atmósfera más violentamente infecciosa, en la cual algunas horas de ebullición eran insuficientes para proteger las infusiones cinco minutos no conteniendo aire y en frascos *ad-hoc,* estando su cuello cerrado durante la ebullición, sólo cinco minutos eran suficientes para asegurar una esterilidad indefinida.

»La significación de aquella observación hecha antes con respecto á las funciones desempeñadas por la ebullición en los establecimientos dedicados á la preservación de la carne y de las legumbres, se comprenderá ahora perfectamente.

»La inacción de los gérmenes contenidos en los líquidos privados de aire, no es una simple *suspensión* de sus propiedades. Los gérmenes *se destruyen* con la falta de oxígeno. Puesto que cuando el aire que ha sido extraído por la bomba Sprengel, se devuelve pasado algún tiempo á la infusión,—teniendo mucho cuidado, por supuesto, que no lleve en sí gérmenes del exterior,—no se produce jamás la vida. Esto es, extrayendo el aire, suprimimos la vida, y la introducción ó vuelta después de dicho gas, es impotente para restablecerla de nuevo.

»Estos experimentos acerca la mortalidad procediendo de la falta de oxígeno son, en cierto modo, complementarios de los magníficos resultados de M. Paul Bert. Aplicando su método á mis infusiones yo las esterilicé en el oxígeno á una presión de diez atmósferas ó más. Lo mismo que los organismos más elevados, nuestros gérmenes bacterídicos se envenenan con el *exceso* y se asfixian con *el defecto de oxígeno*».

He aquí lo expuesto por el propio Tyndall en dicha memoria. A ella acompañan algunas consideraciones acerca la distinción que se ha de establecer entre los gérmenes de los bacterios y estos mismos (1); acerca la pretendida destrucción de los gérmenes por la desecación; acerca el cierre de los tubos; y por último, acerca las diferencias y resultados que presentaron los frascos herméticamente cerrados expuestos al sol de los Alpes; asuntos todos de que nos hemos ocupado extensamente en los anteriores capítulos.

---

(1) Según las excelentes investigaciones de Dallinger y Drysdale, está probado que los gérmenes de las mónades, comparados con el organismo adulto, poseen un poder de resistencia con relación de 11 á 6.

CAPÍTULO VII

ESTUDIO DE LOS BACTERIOS EN GENERAL

Las células que constituyen el cuerpo de los bacterios, afectan tres formas fundamentales: ora presentan esferoides más ó menos regulares, ora son ovoides ó elipsoides. Dichas formas se denominan *micrococcus,* nombre escogido como genérico ó del término menos especial *coccus* (fig. 1.ª 1, 2, 3 y 4).

Si su longitud es mayor que su ancho, su forma es semejante á la de unos palillos (figura 1.ª 5 y 6). Cuando aquella excede poco de este forman cortos cilindros que hasta presentan una figura oval cuando sus extremos están regularmente redondeados (fig. 1.ª 5). Siendo mucho más largos que anchos, es cuando afectan la forma de palillos propiamente dichos ó *bacilar* (fig. 1.ª 6). En este caso pueden ser de un mismo grueso de un cabo á otro, ó más gruesos en uno que en otro afectando la forma de un renacuajo de rana ó más gruesos y como hinchados por el centro á semejanza de un uso más ó menos regular. También pueden ser muy largos en forma de *filamento* (fig. 1.ª 10). Y en fin, pueden atectar formas curvas en aspiral ó ramificadas: formas conocidas por *virgula (coma)* ó como el antiguo género *vibrio,* por *spirillum* y por *spirochæte* (fig. 1.ª 11, 12, 13, 14 y 15). La denominación de *espirulina* se da especialmente á la forma enlazada que representa el número 13 de la figura 1.ª

Cohn (1) describió con el nombre de *cladothrix dicotoma* un bacterio filomentoso que abunda en las aguas impuras, entre las algas pútridas, etcétera, cuyos largos artículos unidos como encolados unos á otros, forman una especie de *falsa ramificación* (fig 2). Estudiando Zopf el desenvolvimiento completo de esta especie, ha podido adoptarle toda una serie de formas (2) redondeadas en pequeños palillos, en filamentos curvos ó en espiral, que hasta entonces habían sido considerados como otros tantos tipos específicos distintos.

---

(1) Cohn: *Untersuchungen über Bacterien (Cohn's Beitr. zur Biologie der Pflanzen.* I. 3.ª p. p. 141).

(2) Zopf. *Die Spaltpilze* p. 8. Breplavia 1885.

Ciertas especies presentan en condiciones mal determinadas todavía una gran variedad de formas, hinchamientos de dimensiones muy variadas que se consideran como estados patológicos á los cuales los alemanes denominan formas de *involución* (de bordes arrollados). Pueden verse en la *madre del vinagre (bacillus aceti)*. Büchner (1) asegura que aparecen también en los *bacillus subtilés* y *bacillus onthracés* cuando en el líquido donde se cultivan dichas especies la proporción de las materias azucaradas es mayor que las azoadas; lo cual prueba que semejantes variaciones sólo son ocasionadas por una mala contrición.

Las formas elementales de los bacterios fueron llamadas *células* y consideradas como tales antes que se tuvieran nociones exactas de su estructura: su manera de desarrollarse recordaba la de las células vegetales y esto fué motivo suficiente para aplicarles la propia denominación.

La constitución de dichas *células* es de las más sencillas: están formadas de una masa de protoplasma circuida por una membrana; esta es más ó menos delgada, rígida ó flexible; en ciertas especies de bacterios sigue las ondulaciones de la masa protoplásmica: su composición química es poco conocida: es muy difícil aislarla del resto de la célula y por otra parte las reacciones microquímicas no aclaran gran cosa la cuestión.

Nencki (2) ha estudiado un bacterio de la putrafacción cuya membrana parecióle ser un compuesto albuminoide la *micoproteina*: según Neisser (3) la membrana del bacterio del *xerosis epitelial* del ojo, está formado por una materia grasa.

En los bacterios productores del pigmento, la membrana parece quedar siempre incolora, por lo menos mientras la célula vive: se colora por difusión después de la muerte.

El protoplasma á menudo aparece perfectamente homogéneo: el bacterio en este caso parece ser una pequeña masa hialina desprovista de granulaciones. Sin embargo, examinando las células de las especies de mayor magnitud (microscópica) en una solución acuosa de verde de metilo, es fácil reconocer que dicha protoplasma no tiene la transparencia que muchos le atribuyen; tiene por el contrario diversas densidades, un aspecto granuloso y á cuando se observan en la masa hialina fundamental, gruesas esferas más brillantes que absorben ligeramente la materia colorante, la cual es difícil no tomar por núcleos, como en los bacterios del tártaro dentario de los perros (fig. 3). Su número varía aún en los de una misma especie. A menudo se ven dos en medio de un palillo, otras veces varios; en este caso están más aproximados á la membrana.

El iodo tiñe de azul el protoplasma de varias especies *(bacillus butyricus, bacillus pasteurianus, spirillum myliferum, sarcina ventriculi)*. Dicha coloración se debe al almidón soluble disuelto en el protoplasma. El fenómeno solo se observa á veces en el momento de la formación de los esporos. En los palillos del *bacillus buctyricus* la materia amilácea cuyo desenvolvimiento se sigue paso á paso con el agua iodurada, se presenta primero en anchos extremos, luego en el centro y finalmente en todo el protoplasma; así que se forma el esporo desaparece el almidón del lugar en que dicho esporo se forma. Dicho almidón es indudablemente una materia de reserva destinada á subvenir las necesidades nutritivas especiales en el momento de la formación del esporo.

La capa externa gelatinosa de la membrana de muchas especies puede hincharse enormemente absorbiendo agua de tal modo que ocupe varias veces su volumen primitivo. De esta manera se forma una especie de gelatino circuyendo los elementos que se hallan reunidos en un punto dado. Esta formación de gelatina es más ó menos fuerte según la especie y las condiciones vitales.

En una misma colonia esas vainas de materia viscosa de los individuos vecinos se tocan y se fusionan de manera que constituyen una masa fundamental homogénea en la cual se han separado los elementos, ó que, poco abundante, los retiene solamente como encolados

---

(1) *Beitrage zur Morphologie der Spaltpilze. (Ncegeli,s Unters über niedere Pilze.* 1882 p. 205*)*.

(2) Id, *Journal für praktische Chemie* vol, XIX y XX.

(3) *Deustche medic. Wochenschrift.* 1884 núm. 21.

unos con otros, formando una especie de masa mucosa de aspecto y de dimensiones variables, según la especie que los constituye. Dichas masas son *zooglos*.

Su modo de unión depende la mayor parte de las veces del grado de difluencia del substrato. Ciertas especies cultivadas en medios líquidos, se esparcen por toda la masa á causa de la poca consistencia de la parte gelatinosa: se puede entonces llegar á hacerles formar zooglos compactos y de forma determinada cultivados en medios sólidos.

Se observan con frecuencia en las fábricas de azúcar masas gelatinosas hialinas, apezonadas, de consistencia elástica que desarrollándose rápidamente en las cubas donde se recoje el zumo de la remolacha ó los arropes. Su forma y su apariencia ha hecho que en Francia se les diera el nombre vulgar de *carámbano de azúcar* (1) y en Alemania el de *huevo de rana (froschtaich)* (2). Son los zooglos de una especie de bacterios de células esféricas, el *lenconostoc mesenteroides* (figura 4, 10 y de 1 á 9 inclusive el mismo zooglo detallado). Las células forman como una especie de rosarios encerrados en una densa vaína de gelatina bastante consistente, casi cartelaginosa. Los cilindros así constituidos se aprestan unos contra otros hasta cubrirse mútuamente en sus sinuosidades, llegando á formar masas irregulares que pueden alcanzar dimensiones mucho mayores que las representadas en las varias divisiones de la figura 4, tipo marcadísimo del zooglo.

Muchos bacterios cromógenos forman en en las materias nutritivas sólidos zooglos de vivos colores. A menudo en la clara del huevo endurecido (huevo cocido) ó en las materias amiláceas cocidas, expuestas al aire, aparecen después de algunos días pequeñas manchas lenticulares al principio rojizas y luego de un rojo cada vez más vivo. Esos pequeños discos de bordes marcados, de aspecto aceitoso, son zooglos del *micrococus prodigiosus*.

La forma del zooglo puede por otra parte variar muchísimo según el medio en que se desarrollen, y sobre todo según dicho medio sea un sólido ó un líquido. Muchos bacterios de forma espiral, afectan en los líquidos copos más ó menos resistentes, constituidos por el enlace de unos elementos con otros.

Las células á veces están más y más reunidas por la materia mucosa que presta más consistencia al zooglo (fig. 5).

El *bacillus aceti* y el *bacillus subtilés* se desarrollan en la superficie de los líquidos donde se cultivan, constituyendo en ella una membrana á la cual se denomina generalmente *velo*. El *bacillus anthracés*, el bacterio del *carbunclo* del hombre y de los animales, se desarrolla en un velo incompleto limitado á la perefería de la superficie líquida; este velo se separa en pequeños copos blanquecinos que caen incorporándose en la masa líquida. Dichos copos sobrenadan durante algún tiempo en el centro sin empañar la transparencia del líquido, pero luego se deposita en el fondo formando un sedimento blanco.

Otras especies, *bacillus butyricus* y *bacterium termo* por ejemplo, no parecen formar película en la superficie ó sólo una delgadísima é invaden toda la masa líquida que enturbian de una manera uniforme.

Un bacterio que se observa en las infusiones salinas, el *ascococcus billrothii* (fig 6), presenta un modo de formación especial del zooglo: la materia mucilaginosa no circunda cada elemento, aislándole de los demás en una parte de su longitud; las células por el contrario se aproximan y se unen para formar pequeñas masas redondas ú ovoides. La gelatina excretada rodea cada una de las numerosas colonias con una densa cáscara transparente.

En cierta fase del cielo evolutivo, en la *beggiatoa roseo-persicina*, las células se reunen de manera que forman la pared de una esfera cuyo centro está lleno de líquido ambiente. Después de algun tiempo se producen lagunas en la membrana periférica así constituida que van transformándose poco á poco en una red de anchas mallas. Es una forma muy especial de zooglo.

Ya sabemos que muchos bacterios poseen

---

(1) Van Tieghem *Anales de ciencias naturales. Botánica.* 6.ª serie t. VII, p. 180.

(2) Cienkowski. *Die Gallertbildungen des Zuckerrubensaftes.* Charkow 1887.

la propiedad de moverse en los líquidos y como hemos indicado en los capítulos precedentes se trasladan de un punto á otro con tal viveza que muchas veces escapan á la investigación del observador en el campo del microscopio, al cual atraviesan como flechas; y otros están animados de un movimiento lento.

Dicho movimiento pues, puede dividirse en dos clases: una de oscilación alrededor de un eje ideal perpendicular al longitudinal y otro de traslación siguiendo dicho eje últimamente citado.

Las formas esféricas, los *micrococcus,* presentan á menudo un movimiento marcado y regular, pareciéndose á una especie de trepidación que se puede confundir con el *movimiento browniano*: ya se sabe que con este término se designa una agitación observada frecuentemente cuando se examinan con el microscopio en su máximum de magnitud, las granulaciones de diferentes clases y de diámetro muy reducido, de uno ó algunos millares de milímetros en suspensión en un líquido. Las causas son poco conocidas.

No se han descubierto filamentos vibrátiles en todas las especies movibles: su carencia en los bacterios de gran magnitud en los cuales de existir debían estar muy visibles, dá á comprender que no son los órganos exclusivos del movimiento. La contractilidad del protoplasma, juega indudablemente un gran papel en el fenómeno de la locomoción.

La naturaleza de los filamentos vibrátiles, ha sido comprobada por muchos microbiólogos. Cuando dos células nacidas de la división de un mismo elemento se separan, la porción común de la membrana en lugar de dividirse en dos puede alargarse en un filamento que se rompe más ó menos cerca de cada una de las dos células que nacen de ellas, constituyendo dicho prolongamiento el filamento vibrátil (1).

El hecho de la resistencia de los filamentos expresados á las materias colorantes ordinarias, no basta para que se niegue su origen protoplasmático. Se sabe, en efecto, que el protoplasma homogéneo, el que constituye la capa periférica desprovista de granulaciones de muchas células, sólo presenta una afinidad muy débil á las materias colorantes que tiñen por el contrario, muy fuertemente el protoplasma central.

Beitschli por lo demás ha señalado el propio hecho en los infusorios flagelatos en los cuales los flagelos muy movibles y con marcada dependencia, sin embargo, del protaplasma, son excesivamente difíciles de colorear. Además, sería más difícil explicar la formación de haces de filamentos vibrátiles descritos en los bacterios en forma espiral. Al fin y al cabo dichos apéndices no se han visto nunca en las especies inmóviles. Por lo tanto hasta que no se demuestre otra cosa, es mucho más racional considerarlos como filamentos vibrátiles y asignarles verdaderamente una naturaleza protoplasmática. El número varía para cada elemento. Las formas esféricas solo tendrán uno: los *coccus* unidos ó agrupados presentan uno en cada polo libre (fig. 7 núm. 1).

Las formas de palillo pueden asimismo presentar uno en un extremo *(spirillum rugula* fig. 7 núm. 2), ó dos, uno en cada extremo *(bacillus subtilis* fig. 7 núm. 3). Los bacterios en espiral poseen ya uno solo en cada extremo *(spirillum undula,* fig. 7 núm. 4; ya varios en haz, bien en uno de los lados, bien en ambos (forma espiral de *beggiatoa roseo-persicina, ophidomonas sanguinea,* fig. 7 n.° 5).

Cuando las células están unidas en forma de rosario, los elementos que se hallan en ambos cabos están provistos solamente de filamentos vibrátiles en sus extremos libres. Estos únicamente son por lo demás los que se mueven por sí solos activamente, los demás siguen sencillamente el impulso que les dan.

Como todos los seres vivientes, los bacterios tienen una necesidad absoluta de oxígeno. Pueden tomarlo del aire disuelto en el medio nutritivo, ó en el estado de combinación poco estable con ciertas substancias. Si por ejemplo se colora la leche de azul por medio de algunas gotas de una solución de carmín índigo y se introducen en ella bacterios comu-

(1) Van Tieghem: *Acerca los pretendidos filamentos de los bacterios.* Revista de la sociedad botánica. 1879 p. 37.

nes del aire ó del agua, se verá perder el color á medida que los organismos van desarrollándose: el índigo pierde colorido á causa de los bacterios que le roban su oxígeno (1). Si después se agita el líquido en el aire, vese reaparecer el color azul, indicio de la penetración del oxígeno. El bacterio del carbono desarrollándose en la sangre, toma el oxígeno á la opihemogoblina y causa de este modo la asfixia de los tejidos que presentan el tinte negruzco característico de la sangre desoxigenada.

Al lado de esas especies que no pueden vivir sin oxígeno, de esos *acrobios* como los denomina Pasteur, hay otros que no solamente pueden vivir sin él, sinó que dicho gas los mata. El propio Pasteur los ha denominado *anaerobios* (2). Se puede citar como tipo su *vibrión butérico,* el *bacillus butyricus*. El líquido que sufre la fermentación láctica, contiene al cabo de poco tiempo cierto número de palillos gruesos y cortos del *bacillus lacticus:* la especie que es acrobia, enturbia uniformemente la masa. Así que el líquido queda sin oxígeno, los palillos se depositan en el fondo en estado de vida latente amontonándose allí en un pósito más ó menos denso: entonces se desarrolla otra especie manifiestamente *anaerobia* que no aguardaba para aparecer más que la desaparición del oxígeno; es el *bacillus butyricus* agente de la fermentación butírica típica.

Toda célula viviente debe hallar en el medio donde evoluciona algo con que compensar las pérdidas ocasionadas por los actos vitales y hasta algo con que aumentar su masa en partes activas ó en reservas. En una palabra, como todos los seres vivientes le es necesario para vivir *alimentarse*.

Los alimentos que le son propios deben por lo tanto encerrar necesariamente los cuerpos simples que entran bajo diversos agrupamientos en la constitución del cuerpo de la célula. La mayor parte de la masa celular está formada de compuestos ternarios: celulosa, materia amilácea, azúcar, todo impregnado de agua en abundancia: luego los elementos químicos que dominan son el carbono, el hidrógeno y el oxígeno: el protoplasma y á veces la membrana contienen materias albuminoides.

Los alimentos pueden hallarse en el mismo medio bajo una forma directamente asimilable.

A menudo cuando una especie halla en el medio en que vive los elementos necesarios á su existencia, se multiplica por división. Por si el medio no le es favorable, si no encierra más que una débil proporción de materias nutritivas, ó si ella misma la ha vuelto desfavorable á causa de la acumulación de sus productos de desasimilación, forma *esporos:* sin embargo, no siempre es esta la causa de la formación de estos ultimos. Muchas especies los forman en pleno período de vegetación.

La multiplicación por división es la más común en la propagación de las especies: propiamente dicho, no es una verdadera reproducción. En efecto, el fenómeno de ésta implica la idea de formación de nuevos individuos. En la verdadera división, un elemento preparado por los diversos cambios que se han verificado en el mismo, forma dos ó varios sin que ningún carácter pueda hacer distinguir un elemento productor de otro producido. Hay en esto un hecho comparable del todo con la multiplicación de los árboles, no por semillas sinó por medio de renuevos ó acodaduras en criaderos ó planteles.

Son actos puramente vegetativos en los cuales no se puede ver una formación real de nuevos seres, sinó simplemente la extensión de un mismo individuo en el tiempo y en el espacio.

Es fácil observar la división de la célula en ciertos bacterios en palillos de gran magnitud. Basta con colocarlas en una gota de líquido nutritivo, cubrirlas con una laminilla y cerrar con latón la preparación para impedir la evaporación. En las especies que no tienen gran necesidad de aire para crecer el desarrollo puede observarse de semejante manera durante un tiempo bastante prolongado. En las demás, esto es, en aquellas especies ávidas de oxígeno se ha de proceder de distinta

(1) Duclaux: *Memorias acerca la leche.* Anales del Instituto agronómico 1882 y química biológica, p. 108.

(2) Pasteur: *Infusorios que viven sin gas oxígeno libre.* Discursos en la Academia de ciencias LII. 1861 y estudios acerca la cerveza, 1876 p. 282.

manera, debe echarse mano de las *cámaras húmedas* que más adelante se describirán.

Si se consideran como verdaderos núcleos las esferas refringentes señaladas al principio de este capítulo, la existencia frecuente de dos de ellas (fig. 3) en el centro de los palillos que han alcanzado una longitud suficiente para dividirse, conduciría á generalizar todavía más las importantes funciones que llenan dichos núcleos en la división celular. Sea lo que fuere, es lo cierto que el tabique se acentúa cada vez más volviéndose más denso á medida que adquiere mayor desarrollo; su parte media se gelatiniza y separa uno de otro ambos individuos resultado de la división del palillo primitivo.

La figura 9 esquemática indica las diferentes fases del fenómeno. Algunas veces la separación es muy marcada, la parte medio gelatinizada existe realmente. Otras veces no hay tal, el espacio claro intermedio solo es pura ilusión óptica: ambos cilindros quedan perfectamente yuxtapuestos: es fácil convencerse de ello aproximando un poco el objetivo de la preparación. Semejante disposición se observa sobre todo cuando los palillos se unen unos á otros por uno de sus extremos.

En los bacterios esféricos el elemento redondo se prolonga y pasa á ser elipsoidal, puede entonces afectar la forma de un cilindro de extremos redondeados (fig. 10 núm. 2), produciéndose en la región media un extrangulamiento (fig. 10 núm. 3); es el aspecto conocido con el nombre de *bizcocho de pluma* ó de *forma de balancin*. Pronunciándose el extrangulamiento cada vez más resulta la formación de dos *coccus* parecidos al primero (fig. 10 núms. 4 y 1). Las relaciones que entre sí guardan los elementos nacidos de la división son tan variables como en los bacilos. Los coccus pueden separarse desde que la división tiene lugar y vivir aislados en el líquido. Se les encuentra á menudo unidas dos á dos: dicha forma se denomina *diplococcus* (διπλόος, doble). Cuando se hallan unidos varios formando series lineales rectas ó tortuosas, es la disposición designada con los nombres de *torula (torulus* hinchado en forma de nudos) ó de *streptococcus* (στρεπτὸς vuelto). El nombre de *staphylococcus* (σταφυλή, racimo) ha sido aplicado á las formas cuyos elementos separados desde la división, se hallan reunidos más tarde por el mucílago en masas irregulares que han sido comparadas acertadamente á racimos de uva.

Cuando dicho encadenamiento tiene lugar, los *diplococcus* son asimétricos, el agrupamiento subsiste, siendo mucho mayor el espacio que separa un grupo de otro que el que existe entre ambos elementos de un mismo grupo (fig. 11).

La división no es tan regular, tan típica en los *micrococcus*. Muchas veces procediendo ambos elementos de un mismo acto de multiplicación quedan desiguales (fig. 12): el *diplococcus* es siempre aquel cuyo centro está más cercano uno de otro. Existe en ellos una relación evidente con la manera de multiplicación de las levaduras. La capa externa gelatinizada presenta entonces un extrangulamiento muy marcado á nivel de la separación de los elementos; ó subsiste como un grano alrededor de dos ó varias células que se tocan en este caso por uno de sus lados.

En vez de efectuarse la división en una sola dirección como en los ejemplos precedentes, puede tener lugar en varias direcciones á la vez sea simultánea ó sea más bien sucesivamente.

Una célula de *micrococcus tetragenus* se divide siguiendo dos planos perpendiculares: se forma de esta manera un *tetraedro* (fig. 13) en el cual los elementos se conducen como aquellos de quienes han nacido y constituyen después de engendrar otros y así sucesivamente durante algún tiempo, unas tablillas aplanadas, *láminas*.

En la *sarcina ventriculi* (fig. 14), el fenómeno es aún más complicado. Una célula redondeada vá agrandándose y dividiéndose tomando tres direcciones en tres planos perpendiculares. El resultado es un pequeño cubo de dieciséis elementos que se dividirán enseguida como la esfera primitiva. Cuando el fenómeno se repita habrá producido una masa cúbica más ó menos voluminosa formada por numerosos cubos más pequeños.

La manera de formación de dichos tetraedros y de las citadas masas cúbicas no está todavía exactamente conocida. Sin embargo,

se sabe que la rapidez de la multiplicación por división es una función directa de la nutrición.

La multiplicación por división ha sido considerada durante mucho tiempo como la única manera de propagación de los bacterios. Las células así producidas no presentan por regla general sinó una débil resistencia á los agentes de la destrucción: la vida de la especie se encontraría pues comprometida si no tuviese á su disposición el medio de vencer tantas dificultades; este medio es el *esporo*. Cuando una especie se halla en condiciones desfavorables, cuando el medio nutritivo desaparece, cuando se experimenta una falta de agua, de oxígeno, etc., se forman en las células por condensación de su protoplasma, ciertos elementos capaces de atravesar esos períodos difíciles, *se forman esporos durables (dauersporen)*. A veces, sin embargo, la formación de los esporos se efectúa normalmente á despecho de toda nula condición de existencia: es un poderoso medio de remoramiento de la especie.

Por regla general solo se forma un esporo por artículo: en los filamentos le gran delgadez de los tabiques ó su desaparición puede hacer creer que existen varios esporos de forma de rosario. El esporo puede ser más pequeño que el filamento ó de igual diámetro. A menudo es más grueso; en este caso el palillo se hincha en al sitio donde se produce el esporo, adquiere una forma de hueso cuando se produce en su centro y de maza ó renacuajo cuando la produccción tiene lugar en un extremo (fig. 15 núms. 4 y 5).

Se forman en el *leuconostec mesenteroides* (fig. 15 núm. 1), en el *bacillus subtilis* (fig. 15 núm. 2), en el *bacillus anthracis* (fig. 15 número 3), en el *bacillus butyricus* (fig. 15 número 4), en el *spirillum rugula* (fig. 15 número 5), en otra especie de *spirillum* (figura 15 núm. 6) y en el *bacillus megaterium* (figura 15 núm. 7).

Se puede observar la germinación de los esporos tomando células que los contengan é introduciéndolos en una gota de líquido nutritivo después de haber tomado la precaución de desecar ligeramente los esporos en la laminilla para impedir su esparcimiento en el líquido.

La sucesión de dichos fenómenos se verá marcadamente bien en la figura 17 que representa según Bary los diversos grados de desenvolvimiento del *bacillus megaterium*. Los palillos que van á formar esporos se segmentan de manera que presentan artículos mucho menos largos (fig. 17 núm. 2) que las células vegetativas ordinarias (fig. 17 núm. 1). En cada uno de ellos aparece en el centro del protoplasma granuloso un núcleo al principio pequeño (fig. 17 núms. 3 y 4) y luego cada vez mayor hasta que toma los caracteres distintivos del esporo (fig. 17 núms. 5 y 6). Cuando éste está bien formado, la membrana de los palillos se descolora, se vuelve difuente y deja salir resquebrajándose los esporos que se hallan libres en el líquido ambiente (fig. 17 núm. 7). El esporo germina al cabo de poco tiempo; su membrana se rompe en la dirección del pequeño diámetro del óvalo de forma y aparece con prolongamiento hialino que crece y se convierte en célula vegetativa ordinaria (fig. 17 núms. 8 y 9.) Los restos de la membrana del esporo, desaparecen rápidamente por gelificación.

Según Prasmowski (1), en el momento de la germinación se forma en uno de los polos un orificio por reabsorción de la membrana; por dicho agujero es por donde sale la tierna célula bajo la forma de un prolongamiento hialino (fig. 16 núm. 4). El esporo de esa especie transportado á un medio nutritivo, fresca, germina al cabo de una hora y media ó dos horas.

El esporo del *spirillum rugula* se forma siempre en un extremo que se hincha fuertemente; el palillo ligeramente encarnado toma la forma de una virgula gruesa ó de una mara (fig. 15 núm. 5).

Los *bacterios en espiral* se dividen en artículos que cada uno produce un esporo de diámetro más pequeño que el suyo (fig. núm. 6). Los esporos del *spirillum endoparagogicum*, germinan en el interior del filamento madre que puede contener los espirilos de segunda generación como otras tantas ramas laterales (fig. 18).

Algunas células esparcidas en las formas de rosario sinuosas del *coccus* se hacen más gruesas que las demás, toman un aspecto

más refringente y engruesan su membrana: son verdaderos esporos (fig. 15 núm. 1), pues solamente ellas resisten á la desecación y á la privación de toda nutrición. Introducidas en un medio fresco, su membrana externa dura se rompe y se forma á expensar de la capa interna gruesa vaina de gelatina que envuelve la masa protoplásmica central, la cual por división dá pronto nacimiento á uno de esos rosarios tan particulares de la especie (fig. 4 y fig. 16 núm. 1).

Los bacterios están sometidos por la misma razón que todos los demás seres, á la influencia de los medios en que viven. Según la composición química, según el estado físico de estos medios, se producen para una especie dada modificaciones en las propiedades y manifestaciones vitales. Encuentran substancias y condiciones favorables á su desarrollo, otras que impiden ó dificultan su multiplicación y hasta hacen imposible por completo la vida: estas malas influencias detienen desde luego las manifestaciones exteriores químicas ó biológicas aunque permitan tener lugar la nutrición bien ó mal. Si su acción continúa entonces, concluye por suspenderse dicha nutrición, la multiplicación vegetativa deja de hacerse y sobreviene la muerte; en semejante caso es cuando algunas veces se producen los esporos para resistir á dichas condiciones que son causa de muerte para las simples células vegetativas.

CAPÍTULO VIII

MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN; INSTRUMENTOS; CULTIVOS; PREPARACIÓN Y ESTUDIO MICROSCÓPICO

El instrumento indispensable para toda clase de investigaciones bacterológicas es un buen microscopio. En los tratados especiales se hallará la descripción y uso de los microscopios compuestos muy perfeccionados que no suministran los principales constructores ingleses, franceses y otros del extranjero; sin embargo, daremos una ligera reseña de ellos por lo que respecto á su parte mecánica en primer lugar por la importancia que tiene en este género de estudios.

Los pequeños modelos tan conocidos de los estudiantes no pueden desde luego servirnos á nosotros. Debemos echar mano de los grandes ó cuando menos de los medianos modelos, cuyas partes accesorias ya muy perfeccionadas desde hace algunos años, ofrecen una gran comodidad al observador y la mayor seguridad para la investigación que se trata de verificar.

Véase la figura 37 que representa un microscopio mediano modelo provisto del aparato de iluminación denominado *condensador Abbé*, el cual tan señalados servicios presta y debe ser considerado como indispensable para el estudio de los bacterios en general.

El aparato de iluminación Abbé (fig. 39) es una modificación del antiguo sistema Dujardín. Se compone esencialmente de un sistema óptico formado por dos ó tres lentes destinados á concentrar la luz sobre la preparación (figura 38). Se le coloca sobre la platina del microscopio de manera que el lente superior entrando en el orificio de la platina esté á nivel de la cara inferior de la lámina portaobjeto con la cual puede ponerse en contacto directo. El condensador está contenido en un collar ó aro *G*, en el cual entra ajustadísimo; se puede reemplazarle fácilmente por una pieza de forma análoga en la cual se instalen los diafragmas ordinarios si se juzga necesario. A dicho sistema óptico va anexo un aparato portadiafragmas especial: es un tambor rebajado *L*, en él se puede colocar una serie de discos atravesados por agujerillos de diferentes tamaños ó un disco de centro compacto unido á la circunferencia por dos ó tres radios y destinado á obscurecer al suprimir la

luz central. Para variar los discos se hace pivotar al tambor tirando del botón que se vé á la izquierda de la figura. Dicho botón dirije una cremallera *M* que hace avanzar ó retroceder el anillo portadiafragma y separa del centro la abertura del disco, lo cual permite se dirijan oblicuamente sobre la preparación los rayos luminosos. Debajo se halla un espejo con dos caras, una plana y otra cóncava. Es preferible servirse de la primera á veces; sin embargo, siendo los objetivos muy débiles es difícil iluminar todo el campo del microscopio con el espejo plano y en dicho caso debemos servirnos del cóncavo. Todo el aparato puede subir ó bajar á voluntad por medio de la cremallera que se pone en movimiento dando vueltas al botón *A*.

Es conveniente y hasta necesario dibujar los objetos ó figuras que presentan tales ó cuales partes de las mismas vistas con el microscopio, porque además de poder estudiar separadamente de una manera mucho más completa y profunda, tiene la ventaja de fijar de una manera duradera muchos detalles de estructura, muchas particularidades de desenvolvimiento, etc, etc., que al cabo de un tiempo más ó menos largo dejaría de retener la memoria más felizmente dotada.

Pero cuando sea necesario guardar dibujos precisos, obtener proporciones y relaciones exactas, la delineación es insuficiente. Entonces es necesario echar mano de la fotografía. La reproducción de las imágenes es importantísima en bacteriología. La rigurosa exactitud de reproducción de formas y dimensiones hacen preferible la fotografía á los mejores dibujos.

En estos últimos años los aparatos de fotografía microscópica se han perfeccionado mucho. La figura 40 representa el gran modelo construido por Verick. Zeis fabrica un aparato más perfeccionado todavía, pero de un precio mucho más elevado. La disposición horizontal de la cámara obscura es muy cómoda para la iluminación y la postura á foco del cliché. Desgraciadamente no puede servir para la fotografía de los cultivos en placas, donde la liquefacción de la gelatina que ocasionan muchas especies, no permite la colocación vertical de las citadas placas. Es necesario, pues, modificar ligeramente el aparato á fin de poder colocarlo verticalmente.

Aunque las ampliaciones sean necesarias para el estudio de las imágenes obtenidas, no deben serlo tampoco tanto que ciertos detalles queden confusos que es lo que desgraciadamente sucede por lo general cuando tanto se quiere agrandar un cliché: se pierde su claridad mucho más de lo que se gana en magnitud. Basta para darse idea de ello examinar el atlas de Crooksahnk.

Después del indispensable microscopio siguen en importancia los aparatos de calefacción á una temperatura elevada ó á una media ó fija. Los primeros están destinados á llevar á una alta temperatura sea en el aire seco sea en el vapor de agua los utensilios y las substancias que se quieran experimentar á fin de destruir los gérmenes qne pudiesan contener; en una palabra, para *esterilizar* toda clase de infusiones. Los demás sirven para mantener á una temperatura media ó fija, por medio de una calefacción continua y regulada, los medios en las cuales se hacen vivir los bacterios.

El aparato de esterilización de aire seco más cómodo es una pequeña estufa (fig. 41) de palastro ó plancha delgada de hierro batida ó de cobre, remachada, de forma cuadrada ó rectangular, en la cual uno de los lados sirva de puerta. Las dimensiones de 30 centímetros de alto por 20 de ancho y profundidad son suficientes.

Puede asimismo emplearse el horno de Pasteur construído por la casa Wiesnegg (figura 42). Es un horno de palastro que se calienta exteriormente por medio de un potente mechero de gas, y en el cual puede suspenderse un cesto de tela metálica conteniendo los diferentes objetos que quieran someterse á una alta temperatura.

Los objetos están mantenidos en una atmósfera de vapor de agua suministrada por una masa de líquido situada en la parte inferior del aparato. Dicho vapor puede mantenerse á presión normal: un termómetro situado en su interior, marcaría en este caso exactamente 100.° También puede alterarse la presión y entonces su temperatura será tanto más elevada cuanto sea dicha presión más fuerte.

El tipo de los aparatos de primera categoría es el *esterilizador de vapor* de Koch (figura 43). Es un cilindro de hoja de lata cubierto por una gruesa capa de fieltro cuya parte inferior cerrada por una red de alambre, está soldada á una caldera de cobre que puede contener de 2 á 3 litros de agua. Dicha caldera va provista lateralmente de un nivel de agua que sirve para indicar la altura de la misma en su interior. El cilindro de hoja de lata se cierra en la parte superior con una tapadera con una abertura tubular para el termómetro, y conteniendo tres pasadores que impiden la obturación hermética del orificio. Los objetos van puestos en el interior en un cesto de hilo de alambre en forma de enrejado.

El más cómodo de los aparatos de esterilización con ayuda del vapor de agua *bajo presión,* es el *autoclave* de Chamberlaud (fig. 44). Es una marmita de Papín perfeccionada.

Como apéndice, además, debemos mencionar los *baños María* ordinarios ó á más elevada temperatura.

El baño María ordinario es uno de los aparatos más útiles y de uso más común. Los constructores venden unos de cobre rojizo fuerte, provistos de rodajas de todos calibres. Se le puede sin inconveniente alguno reemplazar por simples marmitas de todos tamaños y forma que se crea conveniente. Los objetos que sea necesario sumergir se mantendrán en el líquido por medio de contrapesos ó con soportes en forma de pinzas.

Para obtener temperaturas más elevadas podemos servirnos de los baños de aceite ó de las soluciones salinas. Wiesnegg ha construído siguiendo las indicaciones de Pasteur un baño María de cloruro de calcio (fig. 45). Es una caldera de cobre rojo soldada y provista de un soporte interior especial que sirve para fijar los balones, retortas ó botellas, llenas de caldos ó infusiones para esterilizar, é impide que choquen unas con otras durante la ebullición.

Para obtener una gran vegetación en muchas especies de bacterios, es necesario una temperatura más elevada que la de las cámaras ó laboratorios, sugeta á pérdidas de calórico por la demás en sus variaciones diurnas y nocturnas. Es necesario, pues, someter los cultivos á una temperatura constante si no se quiere experimentar irregularidad en el desarrollo.

Generalmente nos servimos de *estufas automáticas,* pero la de Pasteur (fig. 46) responde á todas las necesidades de un laboratorio. Tiene la forma de un gran armario, es de madera, de 1'15 metros de alto por 0'70 de ancho y 0'40 de profundidad, con dobles paredes y doble puerta acristalada para evitar la pérdida de calórico. La calefacción tiene lugar por medio del vapor de agua que circula por el serpentín P, situado en la parte inferior del aparato. Dicho vapor lo produce la caldera A separada del aparato, recorre el serpentín y va á condensarse al refrigerante E, que lo conduce de nuevo á la caldera por el tubo F. El desperdicio de agua es insignificante, pero, sin embargo, se evalúa por medio del tubo de nivel G que en unos de sus lados contiene la caldera: para subsanar dicha pérdida basta añadir igual cantidad cada 15 días ó cada mes por la canilla B, lo cual no dificulta lo más mínimo la marcha del aparato. La acción es automática y está regulada por un *regulador de membrana de cautchuc* denominado de Arsouval que luego describiremos. Otra serpentina llena de agua calentada por la de vapor, se halla adaptada al regulador, siendo las variaciones de volumen del líquido las que obran sobre la membrana.

El gas llega á los mecheros del hornillo por dos tubos, uno que parte del regulador, y otro que conduce una mínima cantidad de gas, destinada á mantener los mecheros en actividad y á impedir una repentina extinción. El elevado precio de dicho aparato (675 pesetas) y sus dimensiones demasiado grandes hace que se prefieran á él los modelos más pequeños, entre los cuales figura en primera línea el *reguladorestufa directo* de Arsouval (fig. 47). He aquí su descripción según la excelente *Revista acerca los aparatos de calefacción empleados en los laboratorios,* publicada por la casa Wiesnegg.

«El aparato se compone de dos vasos cilindrocónicos concéntricos que limitan dos cavidades: una central que es el circuíto que se quiere mantener constante, y otra anular cu-

yo cubo ocupa el tubo señalado con el número 3 en la citada figura 47, y que constituye la masa líquida sometida á la acción del calorífero: esta masa de agua distribuye regularmente el calor al rededor del circuito é impide las variaciones bruscas de temperatura.

»La pared externa de la estufa contiene una abertura tubular lateral (núm. 2), la cual comunicando con el espacio anular está formada al exterior por una membrana vertical de cautchuc que constituye, así que el aparato está cerrado, la sola porción de pared que puede traducir al exterior totalizándola las variaciones de volumen de la masa de agua, puesto que el gas, que debe ir al calentador, va conducido por un tubo (núm. 4), que desemboca normalmente en el centro de dicha membrana y muy cerca de su superficie externa en el interior de una caja metálica (número 7), desde donde sale por otro orificio (núm. 5), que le conduce al mechero calentador (núm. 6). El espacio anular (núm. 1) contiene el agua hervida y por consiguiente privada de aire, que se le introduce una vez por todos abriendo el cubo superior (núm. 3).»

También las estufas cuadradas ó cuadrangulares que se abren por medio de una puerta interior son de resultados excelentes y como la estufa Pasteur antes descrita, de un empleo constante en la práctica. La casa Wiesnegg construye excelentes modelos, perfeccionados sobre el que Münke de Berlín fabricó con arreglo á las indicaciones de Baleés. La figura 48 representa un gran modelo de estufa de esa clase, con dos compartimientos separados por un tabique móvil.

La figura 49 representa el modelo del regulador de cristal que Wiesnegg une á dichas estufas. Su uso es sencillísimo. Está fundado en la dilatación del mercurio por el calor. Al dilatarse el mercurio asciende en el tubo que le contiene y obtura más ó menos completamente el orificio inferior del tubo A, que es por donde llega el gas, siendo la cantidad de éste proporcional á las dimensiones del orificio: dicho gas sale por la abertura tubular B y se dirige al calentador. Se principia por expulsar todo el aire que pueda dividir la columna de mercurio, calentando ligeramente el depósito por medio de la llama de un pico de Bunsen (lámpara), luego se sumerge la parte inferior del regulador en el agua de la estufa por una de las aberturas superiores en la cual se fija por medio de un ajustado tapón por el cual atraviesa. Con ayuda del tornillo lateral V que regula un pequeño depósito de mercurio, se conduce la superficie de éste á nivelar así el orificio inferior del tubo A. Por este orificio pasa cierta cantidad de gas que sirve para calentar la masa de agua de que antes hemos hecho mención por su parte inferior.

Las variaciones de presión que suelen producirse en los conductos de gas, pueden tener resultados desfavorables en el funcionamiento de los calentadores. Para evitar esto en lo posible, suele usarse un *regulador de presión*. El de Moitessier, construído por la casa Wiesnegg (fig. 50), llena á la perfección los fines propuestos. Se le coloca, como se ve en la citada figura, uniendo al tubo con llave de llegada del gas, el tubo desprovisto de ella. Se quita la cubierta dividiendo el corte y se llena de agua glicerinada el depósito hasta el nivel de la pequeña abertura lateral que se ve á la izquierda: dos manómetros laterales completan el instrumento; el uno, anterior, indica las oscilaciones de la presión en los conductos, y el otro la presión á su salida y el poder comprobar la acción del regulador.

Se está ensayando con fruto un termómetro indicador análogo á los indicados, construído especialmente para temperaturas de 20 á 40 grados (fig. 51). La armadura del termómetro se une al polo positivo de una pila por medio de un alambre que se fija en el botón superior; el polo negativo se pone en relación con una aguja indicadora fijada en el disco de cristal que cubre el cuadrante y la cual está encorvada en su extremo, de modo que detiene la aguja del termómetro cuando ésta va á pasar por debajo de aquélla: cuando dichas agujas se ponen en contacto, la corriente pasa, y se interrumpe así que se separan. Por medio de un pequeño electro imán, así que la corriente se establece, levanta un resorte que obra sobre la llave del calentador y la cierra. Al levantarse dicho resorte interrumpe la corriente que entonces es inútil. El aparato se regula fácilmente colocando el indicador á

tres ó cuatro grados más allá de los que marca la aguja. Cuanto más rápido es el enfriamiento, con tanta más rapidez tiene lugar el cierre.

Cuando se deseen observar con el microscopio los bacterios en temperaturas constantes y bastante elevadas, se debe echar mano de aparatos especiales, que permitan mantener las preparaciones al grado deseado, mientras se las observa. Para ello, la *cámara caliente* de Vingal (fig. 52), es preferible á la platina de calefacción de Rouvier.

Los aparatos que hemos citado prestan excelentes servicios en las investigaciones de bacteriología, y facilitan considerablemente el estudio de esa ciencia. Sin embargo, no vayamos á creeer que tan variados como costosos instrumentos son absolutamente necesarios para ello. Nada de eso: la instalación puede hacerse sin grandes dispendios y, sin embargo, en condiciones que permitan sacar provechosos frutos. Es fácil modificar á voluntad los medios empleados con tal que haya la seguridad de llegar al resultado apetecido.

El microscopio constituye el gasto de mayor consideración é indispensable: comprendiéndole en la lista de instrumentos que todo médico que trabaja debe poseer, se reduce á poco el gasto que además hay que añadir. La estufa de aire y el baño María son los dos objetos que prestarán mayores servicios: el coste de la primera es poco elevado; cualquier obrero puede fabricar una, por poco precio, de palastro ó de cobre remachado; y el del segundo insignificante; una marmita de bastante magnitud puede hacer perfectamente oficios de tal. Añadamos á esto varias docenas de tubos para ensayo, algunos fanales, embudos, retortas, cristalizadores y cápsulas de porcelana, y podremos abordar con éxito, pero con ayuda de una gran paciencia y escrupulosos cuidados, tan delicado estudio.

Los líquidos que han sido empleados para el cultivo de los bacterios son muy numerosos, pero nos limitaremos aquí solamente á señalar algunos.

LÍQUIDOS MINERALES.—Pasteur (1) fué el primero que ideó hacer desarrollar los bacterios en soluciones salinas de composición química conocida. La fórmula del líquido que empleó, conocida generalmente por *solución de Pasteur*, es la siguiente:

Agua destilada.	100 gramos.
Azúcar cande	10 »
Cenizas de levadura de cerveza	0'075 »

Dicha solución fué modificada más tarde por Cohn y Mayer. El *licor de Cohn*, aun en voga en ciertos laboratorios de Alemania, se compone de:

Agua destilada.	200 gramos.
Tártaro de amoníaco. . . .	20 »
Fosfato de potasa.	20 »
Sulfato de magnesia. . . .	10 »
Fosfato tribásico de cal. . .	0'1 »

Los líquidos minerales son, generalmente hablando, poco propicios para el desarrollo de los bacterios.

INFUSIONES VEGETALES.—Se han preconizado las maceraciones, las infusiones y las decocciones de plantas. El agua de heno es, entre los numerosos líquidos de esa naturaleza que se usan, la que ha gozado de mayores ventajas. Las cualidades nutritivas de todos esos medios vegetales son por lo general muy débiles.

CALDOS.—Estos son los verdaderos medios nutritivos líquidos, propios para el desarrollo de los bacterios. Se conocen varios, todos excelentes; citaremos entre ellos el *caldo Liebig*, que se prepara haciendo disolver el extracto de carne del propio autor en agua hirviendo, en proporción de 5 gramos de carne por 100 de agua. Después de la solución, se neutraliza por medio del bicarbonato de sosa, y se filtra. El líquido obtenido es de un bello color amarillo rojizo bastante obscuro. Con el tiempo se descolora y vuelve amarillo. Se le puede hacer más nutritivo añadiendo el 1 por ciento de glucosa.

El *caldo de carne* usual es, sin contradicción, el mejor líquido nutritivo. Puede ser de vaca, buey, volatería. Se corta en pedazos que se cuecen á fuego lento, en una cantidad de agua que por lo general está en proporción de un litro por libra de carne. Se espuma cuidadosamente después de algunos hervores y se la mantiene en ebullición de dos

(1) *Memoria acerca la fermentación denominada láctica.* Anales de física y química 1859.

á cuatro horas según la cantidad. Después de frío, el líquido que resulta, se desgrasa, se neutraliza por medio de una solución saturada de bicarbonato de sosa, haciéndolo hervir de nuevo y se filtra. Es conveniente añadir de 6 á 8 gramos de sal por litro: según Miguel, el caldo salado es mejor para el cultivo de los bacterios. Se mejoran también las cualidades de caldos añadiéndoles de 1 á 2 por ciento de glucosa y de glicerina. Hay además *caldos de peptona* y otros cuyos resultados son un poco deficientes.

Las especies parasitarias no hallan en los mejores caldos sino condiciones de nutrición de un parecido bastante apartado con las que favorecen su desarrollo en el organismo. Por lo tanto se desarrollan mal en ellos y algunas no se desarrollan absolutamente, en virtud de lo cual se ha ideado utilizar como medio de cultivo el suero de la sangre, los orines y la leche: el primero es el único en que pueden desarrollarse ciertas bacterias patógenas. Luego, su empleo es necesario para el estudio de esas especies.

Klebs y Brefeld introdujeron las jaleas con base de gelatina en la práctica de los cultivos de las bacterias. Hoy se emplean 6 gramos de gelatina superior por 100 de agua para obtener una jalea consistente, derritiéndola en el baño María. Para aumentar la calidad nutritiva se añade entonces de 1 á 2 por ciento de peptonas secas, y si se quiere 1 por ciento de glucosa pura, que debe suprimirse cuando esta preparación ha de servir para cultivos sobre placas por efecto de la producción de cristales tan pronto como la jalea empieza á perder agua por la evaporación. Como la gelatina y las peptonas dan una fuerte reacción ácida, se le echa poco á poco una solución saturada de bicarbonato de sosa hasta la neutralización completa ó hasta una reacción levemente alcalina. Efectivamente las bacterias se desarrollan mal en los ambientes ácidos, y los necesitan neutros ó alcalinos. Se tiene el baño María en ebullición por espacio de media hora á fin de coagular las materias albuminoides que podrían estorbar.

La figura 53 representa el embudo de baño María ordinario. Es de cobre, dentro del cual se pone otro de vidrio, quedando entre los dos un espacio que se llena de agua. El de cobre lleva un apéndice hueco en su parte inferior, y esta cola es la que se calienta con un mechero de gas ó una lámpara de alcohol. Debe procurarse evitar una ebullición rápida á causa de las proyecciones que podrían efectuarse.

La figura 54 es más complicada, si bien obedece al mismo principio. Se calienta por la corona en donde la temperatura se mantiene merced á la circulación de agua caliente, que exige el empleo de un baño María especial en comunicación con el tubo *b* y el grifo *r*. La gelatina clara cae en el recipiente *d* y puede fácilmente repartirse en los vasos por medio del tubo que domina la pinza de presión *f*.

Los ambientes, que contienen una proporción de gelatina de 6 á 8 por ciento, se liquidan á 25°. Se pueden elegir 23° como término medio, y aun es prudente regular las estufas en que han de colocarse los cultivos sobre gelatina para una temperatura que no pase de 20°.

Sucede á veces que á pesar de repetir las filtraciones los ambientes de gelatina guardan una apariencia lechosa ú opalina. Se obtiene una limpidez absoluta batiendo, con la gelatina, clara de huevo. Una sola clara basta para 500 gramos de gelatina. Se remueven para repartirla bien en el líquido á una temperatura de 40° ó que no pase jamás de 50°. La albumina se coagula y envuelve las partículas más ténues suspendidas en el líquido.

La cola de pez da gelatinas de clase muy inferior, así como pueden obtenerse otros medios ambientes que no producen los buenos resultados de las expresadas gelatinas.

La figura 55 representa un baño María provisto de un regulador de membrana que sirve para esterilizar los cultivos en que se ha de operar. Ya en los capítulos anteriores hemos hablado de las operaciones necesarias para la esterilización, y solamente mencionaremos aquí la de coagular el suero, cuya operación se efectúa perfectamente bien con el aparato representado en la figura 56. Los pies anteriores D y C son de variable altura para dar á los tubos la inclinación que se quiera. Se calienta suavemente hasta llegar á la temperatura de 60°, dejándola subir con más precaución aún hasta los 65°. La coagulación se

opera á veces á esta temperatura, pero las más conviene llegar á 68° y hasta 70°. Importa tener presente que el suero, adicionado con un 6 por ciento de glicerina, casi nunca se cuaja á menos de los 75°, pero siempre conviene que la coagulación se efectúe á la temperatura más baja posible, porque así el medio ambiente resulta tanto ó más claro. La temperatura á que se cuaja el líquido debe mantenerse por espacio de una hora larga, y entonces es cuando debe intervenir la acción del regulador, que se provoca poniendo el tubo vertical tan pronto como se ha operado el cambio.

El grado de calor que es necesario para matar los gérmenes de una manera segura, altera muchos ambientes nutritivos y sobre todo los líquidos orgánicos. Para lograrlos exentos de todo germen sin modificarlos, Pasteur imaginó filtrarlos por medio de cuerpos porosos. Más, de todos los aparatos ideados al efecto ninguno constituye un filtrador tan perfecto como el inventado por Chamberland. Consiste esencialmente en una bujía A de porcelana no recocida, cerrada por un cabo y terminada en el otro por un pezón abierto. Esta bujía está firmemente sostenida por una cubierta cilíndrica D y una cubierta cilíndrica C, de suerte que su extremo abierto B salga sólo en la parte inferior. Toda comunicación de la cavidad de la cubierta con el exterior se confunde merced al anillo de cauchuc que la pieza C comprime. Así la mayor parte de la bujía está libre en la cavidad E de la cubierta á donde llega bajo presión el líquido que se ha de filtrar. Cuando los poros de la bujía se obstruyen por exceso de la filtración, se la cepilla con abundancia de agua y se la mete en el fuego para quemar toda materia orgánica que pueda impregnarla.

Pero las soluciones espesas y mayormente las viscosas pasan difícilmente, y por ello es necesario operar á veces sobre el líquido que ha de filtrarse una presión más ó menos enérgica. El aparato representado por la figura 58 es muy apropósito para el caso. El líquido que debe filtrarse se coloca en el recipiente de la parte superior, que es de cobre de paredes sólidas y cuya cobertera B se sujeta por tornillos de presión C. Este recipiente lleva en su parte inferior un filtro semejante al filtro de Chamberland. Un grifo G regula el paso del líquido del recipiente al espacio que rodea la bujía K. La presión se obtiene por medio de una bomba aspirante é impelente de Gay-Lussac P que se relaciona con una articulación tubular del grifo E que lleva la cobertera del recipiente. Un manómetro F indica la presión obtenida. La bujía debe estar cuidadosamente esterilizada por medio del calor y encerrada, cuando todavía está caliente, por un tapón de nata para impedir la entrada del aire contaminado, cuando se enfría. El aparato es costoso pero muy conveniente para esterilizar fácilmente muchos líquidos nutritivos. La bujía se limpia como ya se ha explicado anteriormente.

Duclaux ha empleado, en sus estudios sobre la leche, un aparato muy sencillo y poco costoso, que puede prestar grandes servicios para la esterilización en frío (fig. 59). Consiste en un matraz A cuyo cuello se halla alargado en *a* y al cual se han soldado dos articulaciones tubulares *c* y *b*. La tubular *c* está alargada en punta y cerrada; la segunda *b* se ha dejado abierta, y sólo se cierra con un tapón de algodón. En *a* se le añade un tubo de mangnesita, poroso, cerrado en el extremo inferior que se sumerge en el líquido y está unido en *a* con almáciga, pero deja libia. El aparato esterilizado en la estufa seca está unido en *b* á una trompa y en *d* á un recipiente que contiene el líquido que se ha de esterilizar. Bajo la influencia del vacío practicado en A el líquido se filtra rápidamente á través del tubo de tierra porosa.

Los aparatos representados por las fig. 60 y 61, son muy útiles para los cultivos hechos con caldo. Son tubos de vidrio recios, cuyo cuello está estirado y tiene una extrangulación (*a* fig. 60 y *c* fig. 61). Tienen un tubito adelgazado lateral horizontal (fig. 61) ó encorvado verticalmente hacia abajo (fig. 60). Se introduce un tapón de nata en el cuello empujándolo hasta la extrangulación. Los tubos se esterilizan en seco á elevada temperatura 150 á 200° durante una hora ó dos. Para llenarlos, una vez fríos se corta con una lima la punta del tubito tapada y se introduce el líquido esterilizado aspirando por la otra abertura. El orificio del tubito vuelve á taparse al punto

con el soplete. En esos pequeños aparatos, puede fácilmente hacerse el vacío reuniendo el cuello á una cometa, el tubito lateral sirve para dar paso á un gas inerte, hidrógeno ó ázoe. La siembra se efectúa cortando la punta del tubito é introduciendo en él por aspirando un poco de líquido contaminado.

Los tubos de recipiente doble, como los de la figura 62, pueden utilizarse aspirando en ellos el líquido esterilizado después de romper la punta tapada del tubito y repartiéndolo entre los dos brazos. Se puede emplear un solo brazo aspirando un poco de líquido cargado de germen por medio de una abertura practicada en el tubito. El otro brazo queda como comprobante. O bien pueden emplearse los dos brazos con caldos ó materias diferentes con el fin de hacer comparaciones muy visibles.

Pueden también utilizarse, para esos experimentos, los matraces de fondo plano, como el representado por la fig. 63 y que se denomina *matraz de Pasteur*. Una cubierta esmerilada por dentro se coloca arriba en el cuello esmerilado igualmente, la cual termina con un tubo de poco diámetro, el cual se tapa con una bola de nata. Se llena el aparato en un tercio ó la mitad por medio de un embudo; y para evitar la adherencia demasiado fuerte de la tapadera, se engrasa el cuello con un poco de vaschina sublimada después de llenar el matraz.

Los vasos llamados matraces de Erlenmeyer, de fondo ancho y plano, son excelentes también y cuestan menos; pero no se oponen tanto á la evaporación del líquido como el modelo de Pasteur.

Es útil á veces emplear matraces cuyo cuello se ha estirado con el soplete (fig. 64). Para llenarlos se abre la punta con una lima y se calienta ligeramente el matraz. Sumergiendo esa punta en el líquido nutritivo, éste penetra dentro por efecto de la disminución de presión terminada con el enfriamiento. La punta se cierra con el soplete y el matraz se pone á esterilizar. El aparato de la fig. 65, es infinitamente más cómodo para conservar los líquidos esterilizados y repartirlos enseguida en otros vasos sin temor de que aquellos se contaminen. Se tapa el cuello encorvado del matraz con un tapón de nata empujado en su extrangulación y se estiriliza en el hornillo ó la estufa seca. Después de enfriarse la punta del apéndice lateral, se corta con la lima y se sumerge en el líquido que se quiere esterilizar, y luego se llena el aparato aspirando por el orificio del cuello. La punta vuelve á cerrarse con el fuego. Es muy fácil sacar el líquido que ha quedado puro ó en el cual se ha desarrollado una especie sembrada, para lo cual, basta abrir el tubito y hacer salir la cantidad que se quiera, inclinando el vaso. Con estos aparatos pueden emplearse varios medios ambientes.

El uso de células de vidrio, empleadas desde mucho tiempo para el estudio de los hongos inferiores, responde á todas las necesidades. Estos aparatos consisten en un aro de vidrio de altura y diámetro variables, unido á un porta-objeto por medio del bálsamo del Canadá ó de otra materia adhesiva (fig. 66, *C*). La cavidad así limitada puede cerrarse por arriba con una planchita que debe aplicarse exactamente en el borde superior rodeado del anillo *B*. Fácil es prepararlo por sí mismo. Tómase un denso vaso de vidrio de 1 á 2 centímetros y por medio de una lima triangular y de una ascua encendida, se separan segmentos de 5 á 6 milímetros de alto. Estos anillos se desgastan con esmeril en los bordes, de manera que resulten perfectamente rectos y paralelos uno á otro. Se pega el anillo á un porta-objeto guarneciendo su faz inferior con una leve capa de bálsamo del Canadá y se deja secar. Una planchita que se aplica al borde superior, untada de vachina sublimada, cierra completamente la cámara. Echando una gota de agua pura en el fondo de la cavidad sobre el porta-objeto y otra gota de caldo ó de otro medio ambiente *(P)* en la cara inferior de la planchita, se tendrá á disposición un medio aislado de todo contacto exterior, que bastará á dar, durante mucho tiempo, bacterias que en él se desarrollarán. La observación así podrá verificarse aun con objetivos fuertes á cada instante, como quiera que las células se esparcen por el líquido y alcanzan pronto la faz inferior de la planchita.

La *cámara húmeda* de Ranvier (fig. 67), es de uso semejante. Se pone una gotita de agua

en la ranura *d* y la gota de líquido que contiene bacterias en el disco medio *s* cuyo nivel está algo más bajo que el de la superficie superior del porta-objeto. Se tapa con una planchita esterilizada cuyos bordes están engrasados con parafina.

De los últimos tres aparatos el primero es sin disputa preferible á causa de las dimensiones de la cavidad de cultivo, que permite usar una cantidad más considerable de materia nutritiva y dejar más aire á la disposición de las células que en ella se desarrollan. Los otros dos convienen especialmente para los experimentos de poca duración.

La observación de las bacterias vivientes por medio de esos procedimientos da interesantes pormenores sobre su modo de vivir. Pueden notarse sobre una misma célula las modificaciones que puede sufrir, la multiplicación vegetativa, la formación de los esporos ó su germinación.

La *cámara de gas* de Ranvier (fig. 68) permite observar sobre un porta-objeto el crecimiento de las bacterias en diferentes gases. Es de precioso auxilio para estudiar las especies anaerobias. Se deposita una gota del líquido por examinar en el disco de vidrio *a* y se cubre con una laminita untada de parafina para pegarla al porta-objeto metálico. El líquido forma una capa delgada entre la laminita y el disco *a* que se encuentra á un nivel algo más bajo. La corriente gaseosa pasa por las articulaciones tubulares laterales de que está provisto el porta-objeto y circula por la ranura *b* que rodea el disco *a*.

El cultivo sobre placas inventado por Koch es uno de los más seguros y fructíferos de la bacteriología. El principio que guió á su autor fué el de diseminar en gelatina, liquidificada á baja temperatura, las bacterias contenidas en una parte pequeña de la substancia por examinar, de manera que les permitiese desarrollarse aisladamente cuando la gelatina enfriada y cuajada las tiene á distancia una de otra.

Para esos experimentos suelen emplearse planchas de vidrio de 10 á 12 centímetros de ancho por 14 ó 15 de largo. Es preferible darles una anchura igual al doble de la distancia que va del centro de la platina á la base de la columna que sustenta el tubo del microscopio que se usa. De este modo se podrán explorar con el microscopio todas las partes de la plancha, lo que casi no podría hacerse si fuese más ancha, pues quedaría inaccesible una faja central. Estas planchas, muy limpias, deben calentarse de antemano hasta esterilizarlas por completo. Se esterilizan cómodamente poniendo cierto número en una caja de palastro (figura 69) provista de tapadera. Por espacio de hora y media ó dos se deja en la estufa de aire caliente á unos 140°. Se retiran las placas una á una, á medida que se necesitan, por medio de unas pinzas apropiadas y abriendo la caja en la posición horizontal. Pueden las placas esterilizarse á llama de gas ó de alcohol. Se ponen á enfriar con la cara que ha de utilizarse vuelta arriba y cubiertas con una hoja de papel blanco muy limpia.

Para evitar que la gelatina se esparza irregularmente en la placa ó se derrame por los bordes, es absolutamente preciso disponer de un soporte *perfectamente* horizontal, lo cual se obtiene empleando una plancha provista de tres tornillos graduadores (fig. 70) que se pueden hacer funcionar como convenga y sirviéndose de un pequeño nivel de agua.

Conviene que las placas midan 20 centímetros por 30, para que puedan colocarse en número de tres, sobre la plancha nivelada, que han de utilizarse para una operación. Cada placa debe llevar una etiqueta con las indicaciones necesarias, y se van colocando aisladamente en el fondo de un armario cerrado, esterilizado, donde se mantiene la humedad con un tapón de algodón empapado de agua caliente, ó varias en conjunto, valiéndose de las combinaciones que al efecto convengan. Pequeñas estanterías de cobre ó zinc, según el modelo representado por la fig. 71, que pueden soportar tres ó cuatro placas, son muy convenientes para el caso. Luego se meten éstas en un armario ó cámara de cristal cerrada y húmeda.

Los cultivos sobre placas se hacen á la temperatura ordinaria ó en una estufa regulada de 18 á 19° cuando son muy considerables los cambios nocturnos ó diurnos de la temperatura. En los recios calores del verano conviene bajar la temperatura, si se quiere que la gelatina se mantenga cuajada.

Del segundo al quinto día de someter las placas al experimento, es cuando puede ser particularmente instructivo el estudio. Si examinamos en este intervalo un cultivo de agua preparada como se ha dicho varias veces, encontramos toda una serie de colonias bacteriales cuya diversidad de aspecto nos sorprenderá á menudo (fig. 72). Todas son enemigas que hay que temer para los cultivos, pues son masas de musgos cuya diseminación de esporos debe evitarse en lo posible dentro del local de observación. No sucede así con las colonias de bacterias que se intenta estudiar, puesto que con ellas, aislándolas bien unas de otras, es sencillísimo conseguir cultivos puros de las especies sembradas.

Se procede á la siembra sobre gelatina ó gelosa, siguiendo las precauciones indicadas antes con respecto á los cultivos en tubos. Se ha de escoger, si es posible, una colonia bien aislada en la que no se vea con el microscopio la menor mezcla. Se mete en la colonia el extremo de una aguja de platino previamente esterilizada en el fuego. El operador sostiene con la mano izquierda un tubo de cultivo cuyo tapón de uata ha preparado de manera que pueda sacarlo sin obstáculo. Manteniendo inclinado el tubo con el orificio hacia bajo, ó á lo menos todo lo horizontal posible, se quita la borra con la mano derecha armada con la aguja de platino cargada de materia tomada en la colonia; luego sumerge la aguja en el tubo y siembra en el medio ambiente por medio de una punzada ó estría. Es bueno verificar inmediatamente con el microscopio el estado de la colonia tocada para asegurarse de la perfección de la maniobra.

Para estudiar el cultivo de los *anaerobios* debe tenerse presente que éstos no pueden desarrollarse en presencia de oxígeno libre y por lo tanto conviene modificar los procedimientos ordinarios.

En sus investigaciones sobre la *vida sin aire*, Pasteur sembraba las especies que estudiaba, y particularmente el *bacilo butírico*, en líquidos privados de aire, haciendo borbotar en ellos, durante bastante tiempo, una corriente de hidrógeno ó de ácido carbónico. El vaso, matraz ó tubo de vidrio, que contenía el caldo de cultivo ó la jalea mantenida líquida en el baño maría, está provisto de un tapón cruzado por dos tubos de vidrio provistos de grifos. El tubo de entrada del gas se mete hasta el fondo del medio ambiente nutritivo, y el otro pasa apenas del tapón. El gas inerte borbota en el líquido y le quita poco á poco el oxígeno que contiene, sustituyéndole, y hasta llega á constituir por completo la atmósfera del aparato. Ciérranse los dos grifos ó se pone el extremo del tubo de salida bajo el mercurio de una cubeta, lo cual permite fácilmente recoger los productos gaseosos que pueden desprenderse. Cuando se tiene una trompa para mercurio ó cualquier otro aparato para formar el vacío, es mucho más fácil quitar todo vestigio de aire, haciendo el vacío varias veces seguidas en el aparato, dejando entrar cada vez el gas inerte. Cuando el gas procedente del desarrollo de las bacterias anaerobias debe analizarse, se ha de evitar el empleo del hidrógeno y del ácido carbónico. Puede entonces utilizarse el ázoe y aun sería preferible practicar el cultivo en el vacío obtenido con la trompa.

Mezclando materia de siembra con la gelatina ó la gelosa líquida en un tubo de ensayo, los anaerobios se desarrollan en las capas profundas del medio nutritivo (fig. 73), y en ellas forman colonias más ó menos dispersas, como puede observarse hendiendo de un golpe de lima y con una ascua encendida el tubo en el sitio que ocupan.

La propiedad que tienen los aerobios verdaderos de absorber en tiempo muy corto todo el oxígeno en disolución dentro de un ambiente en que se desarrollan, se ha utilizado para procurar un cultivo favorable á los anaerobios; y esto es lo que á cada momento ocurre en la naturaleza. Así, por ejemplo, en muchas putrefacciones las especies muy ávidas de aire invaden rápidamente el líquido, que enturbian de una manera uniforme. Mientras hay oxígeno disuelto, vegetan en él con abundancia y en todas direcciones. A medida que este gas desaparece, las bacterias dejan las capas profundas y se acercan á la superficie. Pronto se encuentran únicamente en la cara superior en contacto directo con el aire, y allí forman un velo unido ó túpido. El líquido se ha aclarado, todas las células, que contenía,

han caído al fondo del vaso muertas asfixiadas, ó habiendo dado esporos; y además falta ya por completo el oxígeno en su interior, por impedirle todo acceso el denso velo formado en la superficie. Este es el momento propicio para los anaerobios. Si hay esporos, germinarán así que el oxígeno haya desaparecido y podrán seguir multiplicándose mucho tiempo protegidos del aire por el velo formado de aerobios que consumen el oxígeno al pasar.

Roux en un trabajo reciente expuso los medios seguidos en el laboratorio de Pasteur para cultivar los anaerobios. Para los cultivos hechos en los líquidos recomienda el aparato representado por la figura 74. El tubo se esteriliza con el fuego; y con auxilio de los apéndices laterales, que se cierran al punto con la llama del soplete, se introducen en un brazo líquido nutritivo sembrado y en el otro, líquido puro. Se hace el vacío varias veces seguidas uniendo á una trompa uno de los dos grifos superiores. Se puede introducir un gas inerte por el otro grifo ó mantener el vacío. El tubo está fundido en A y puesto á secar en la estufa. Para obtener otro cultivo, basta inclinar el tubo para que pase una corta cantidad del líquido en que se desarrolla la bacteria dentro del otro brazo. Si se quiere examinar el líquido, se une el extremo del tubo A con el gasómetro y se rompe su punta en el tubo de cauchuc intermedio, y cortando el extremo de un apéndice lateral, se deja verter la cantidad que se quiera. El cultivo sigue muy bien, si se encierran los dos tubos abiertos sin introducción de aire.

Para los ambientes sólidos el mismo profesor Roux emplea el tubo de la figura 75, cuyo uso es el mismo que el descrito últimamente. Repartiendo los gérmenes en la masa y tendiendo el tubo, se obtiene una especie de cultivo sobre placas. Para conseguir colonias, se hace en el tubo un agujero con la lima, sobre el cual se aplica una ascua encendida, y las dos partes se separan enseguida.

SIEMBRA DE LOS CULTIVOS.—Pureza de la materia que ha de sembrarse, esterilidad absoluta del medio ambiente de cultivo, posibilidad de introducción de gérmenes extraños en la manipulación, son las tres condiciones que siempre deben tenerse presentes para evitar en lo posible varias causas de errores.

Para sacar materia por inocular, sirve ventajosamente una aguja de platino, que se confecciona clavando un alambre de dicho metal de 5 á 6 centímetros de largo en un mango de madera ó en una varita de hierro candente (fig. 76). El extremo puede ser recto, curvo en forma de gancho ó en asa simple ó doble. Esta última forma es cómoda para tomar líquidos de los cuales se quiera cierta cantidad. Es esencial que esta aguja se esterilice siempre, antes y después de cada operación, haciéndola enrojecer al fuego. También pueden sustituir esta aguja de platino, mas nunca con ventaja, varitas de vidrio ó de cualquier otro metal que soporte la acción del fuego.

Cuando se trata de un medio líquido, se destapa para echarle las semillas bactéricas, y con cuidado, el vaso que lo contiene, se agita la aguja que lleva la partícula de inoculación, de modo que se deslíe en la masa. Enseguida se cierra bien el vaso. Si la substancia se ha recogido con una pipeta de vidrio, como suele hacerse también, la punta estirada se calienta á la llama y, después de romperla, se deja saltar una gotita de la materia por inocular, como si se hiciera con la expresada aguja y tomando las mismas precauciones. Si el líquido es tardo en salir por sobrado viscoso, se sopla levemente en la pipeta por el extremo opuesto y provisto de un tapón de algodón en rama (uata).

Los ambientes sólidos se inoculan frotando su superficie, ó introduciendo en su masa la punta de la aguja ó de la pipeta cargada de substancia por sembrar. Cuando los tubos contienen jaleas solidificadas, la inoculación puede hacerse *por punción*, cuando el tubo se ha enfriado en la posición derecha (fig. 77); la aguja se hunde en la jalea, perpendicularmente á la superficie, á una profundidad variable; ó puede hacerse simplemente un punto ó trazar una incisión de algunos centímetros. Cuando se han colocado los tubos en posición inclinada para disponer de una mayor superficie de jalea, se hace la inoculación trazando uno ó varios *rasgos* ó *estrías* en la superficie de la jalea (fig. 78); la aguja debe siempre encentar, á lo menos un poco la superficie del centro, de modo que ponga la semilla en contacto con

una capa que no esté seca, lo que sucede á menudo en la superficie, cuando se conservan los tubos por algún tiempo. Durante la operación, debe mantenerse el tubo horizontal, ó mejor vuelto el orificio hacia la base; y veremos, en efecto, que así se evita la contaminación por los gérmenes del aire, los que, cuando la atmósfera está en calma, caen siempre siguiendo la vertical. La uata que cierra el tubo, ha sido quitada del ápice y colocada entre los dos dedos de la mano izquierda que sostiene el tubo de inocular, evitando el contacto de su parte inferior con la mano. Al punto de acabar la inoculación, se vuelve á su lugar, antes que el tubo se ponga derecho.

Los cuchillos candentes de los termocáuteros son excelentes para practicar las primeras incisiones. En el estudio de las bacterias patógenas se recurre á veces á la punción de órganos profundos que, para el pulmón y el bazo particularmente, puede hacerse sin temor, con tal que se opere con una rigurosa antisepsia.

Cuando la materia que se pretende inocular no encierra más que una clase de bacterias, basta tener presente lo que acabamos de exponer; pero cuando se trata de mezclas de especies que deben aislarse, se emplean diversos métodos para separarlas y obtener un cultivo puro de una ó varias de ellas. En este caso se someten las mezclas á influencias que maten las especies que se quieran eliminar y que únicamente resista aquella que debe estudiarse. El calor es el agente más útil y fácil. Pero el verdadero método de aislamiento de las especies consiste en el cultivo hecho con placas, conforme hemos indicado en este mismo capítulo. Las bacterias anaerobias se aislan fácilmente por procedimientos especiales, conforme se ha dicho también. Ciertas especies patógenas se separan por sí solas cuando se las somete al cultivo, desarrollándose á expensas de las otras que están mezcladas con ellas y á las cuales destruyen rápidamente.

CAPÍTULO IX

DESARROLLO DE LOS CULTIVOS Y MODIFICACIÓN DE LOS MEDIOS AMBIENTES

La rapidez del desarrollo en las condiciones semejantes de calor y aereación corresponde siempre á la calidad nutritiva del medio ambiente. Para la *bacteria del cólera*, por ejemplo, según el poder nutritivo de la gelatina, los cultivos ofrecen un desarrollo muy variable: un cultivo de cinco ó seis días en gelatina poco nutritiva, no se desarrollará mucho más que otro de dos días hecho con gelatina muy nutritiva. Un líquido mineral no ostentará más que una ligera turbación pasados varios días de la siembra, cuando un buen caldo de vaca, puesto en observación, en el mismo instante se presentará casi fangoso.

El microbiólogo Miquel, en *los Organismos vivientes de la atmósfera*, da como signos distintivos los siguientes caracteres generales del cultivo: 1.° El líquido límpido, dejando en el fondo del vaso un depósito, cuyo color es blanco, amarillo, rojo, etc. 2.° El líquido que se enturbia de pronto, formando luego un depósito en el fondo del vaso ó un velo en la superficie del líquido. 3.° Cuando el líquido es transparente se forman en la masa copos blancos, ligeros, sedosos.

Los cultivos en medios sólidos dan caracteres macroscópicos generalmente más fáciles de apreciar y permiten mejor el aislamiento de las especies. En el primer caso forma el cultivo una masa más ó menos densa homogénea ó formada por esferitas pegadas entre sí, que llena el canal de la punción, y se ostenta más ó menos en la superficie, formando una especie de *cabeza de clavo* (fig. 79) ó un disco. Del canal de la punción pueden salir finas prolongaciones que irradian en todos sentidos constituyendo una especie de bolsa sedosa sumergida en la jalea (fig. 80).

Si la gelatina ha de liquidarse, comienza la licuación en la superficie en el lugar de la punción, y luego se extiende por todo el surco trazado por la aguja. Es más rápida arriba, donde el oxígeno abunda; y entonces se efectúa una forma análoga á la representada en la figura 81, designada con el nombre de *licuación en embudo*. El fenómeno progresa; el divertículo de gelatina licuada se hace más considerable, y da una especie de saco prac-

ticado en la jalea y lleno de líquido (fig. 83). Por último la licuación alcanza hasta los bordes; la gelatina se liquida enteramente ó hasta cierta profundidad tan solo (fig. 82), cuando la especie está ávida de oxígeno y no puede por lo tanto desarrollarse en las capas profundas. En el líquido formado se desarrolla la bacteria como en un caldo cualquiera.

No se inoculan en gelatina con tubos inclinados sino las especies que no se licuan en ese medio. Fórmase á lo largo de la estría un revestimiento transparente ú opaco, incoloro ó de diverso color: á veces es muy limitado, y otras cubre la mayor parte de la superficie inclinada. La jalea puede tomar varios matices, verde, rosado, pardo, según la especie que se cultiva.

Los caracteres de los cultivos en tubos de gelosa son variables de igual modo. El cultivo se extiende más ó menos á cada lado de la estría; puede formar en la superficie un revestimiento (fig. 84), liso ó con pliegues diversamente coloridos.

Cultivos en el organismo vivo.—El cultivo de las bacterias en organismos vivos se debe enteramente á Pasteur, el cual descubrió con él su famoso *bacilo séptico* ó *vibrión séptico*. Inoculando en la piel de una cobaya ó de un conejo una cantidad pequeña de tierra vegetal que contiene gran número de especies bactéricas muy diferentes, dicho bacilo llega pronto á ocupar solo el terreno, donde pulula y determina tan profundos trastornos, que el animal sucumbe presentando los síntomas característicos de la *septicemia de Pasteur*. Es un medio empleado cada día en la práctica para obtener cultivos puros de la *bacteria del carbunclo*. Inoculando sangre *no putrefacta* donde esta especie se halla mezclada con otras, el animal muere del carbunclo típico; su sangre, recogida con las precauciones necesarias para no mezclarle gérmenes extraños, no contiene más que bacilos *anthracis*, de los cuales da cultivos muy puros. No quedan vestigios de las otras bacterias de la mezcla primitiva. De ahí Koch y Charrin han sacado deducciones que les han permitido practicar otros experimentos; y así, por ejemplo, inoculando en conejos sangre putrefacta de otros conejos muertos de carbunclo, Charrin obtuvo un *micrococcus* especial que mataba al animal en pocas horas.

Tales experimentos suelen hacerse con animales de sangre caliente; pero si se quieren emplear aves ó animales de sangre fría, se han de tener presentes las modificaciones que puede exigir la temperatura más elevada en las aves ó más baja en los animales de sangre fría; porque tales diferencias pueden cambiar las condiciones del experimento. Los conejos, las cobayas y las diferentes especies de ratones son los que más se emplean; v los animales mayores se reservan para pruebas especiales. Pero todos los que han de servir para los experimentos, han de alejarse de toda causa de contagio que pudiera falsear los resultados conseguidos, y sobre todo de los que hayan sido inoculados ya. Es preciso no practicar inoculaciones en el local en que se hayan manipulado cultivos y los animales que de éstos hayan sucumbido, hasta tener la seguridad de haberse purificado ó esterilizado el local.

Los conejos y cobayas se sujetan, para operar en ellos, conforme indica la figura 85; aunque para animales menos inofensivos, ú operaciones difíciles y largas, es preferible servirse de aparatos de retención que permitan inmovilizar el sujeto de una manera completa; y sobre todo variar *ad libitum* la disposición de las diferentes partes del cuerpo con respecto á la operación que ha de practicarse. El aparato de Czemak (fig. 86), que se encuentra en todos los laboratorios bien montados, responde perfectamente á las condiciones necesarias.

El animal que debe someterse á la inoculación (practicada á raíz de la cola para las pequeñas operaciones) ha de estar perfectamente sano, y los instrumentos limpios y esterilizados por medio del calor generalmente y nunca debe exigirse del experimento más de lo que pueda dar. Ciertas enfermedades contagiosas no pueden desarrollarse en determinadas especies, y si, por ejemplo, el ratón silvestre resiste el bacilo de la septicemia, que mata rápidamente al ratón doméstico, también pueden variar el resultado las condiciones del experimento y las circunstancias que lo rodean.

Pueden introducirse los gérmenes contagio-

sos por el *intestino*; pues todas las heridas que éste tiene son otras tantas probabilidades de que penetre el parásito en el torrente circulatorio. Pasteur contagió el carbunclo á una partida de carneros que se proponía contaminar. Pero es imposible, en el estado actual de la ciencia, dar reglas generales: el experimentador debe procurar vencer los obstáculos que se le presenten en esta clase de operaciones.

La *inhalación* puede darnos resultados más positivos, como quiera que sus efectos obran más directamente sobre la sangre del organismo vivo. Puede pulverizarse en la atmósfera donde respira el animal, agua cargada de bacterias tomadas en cultivo puro; ó bien se insuflan directamente en las vías respiratorias cultivos secados á baja temperatura y reducidos á polvo. Cadeac y Malet demostraron tras una serie de experimentos de esta índole, que podía inocularse la tuberculosis por inhalación de líquidos pulverizados que tenían en suspenso bacilos tuberculosos; y en cambio la infección se desarrolla difícilmente cuando los mismos agentes están incorporados.con polvo.

El método de inoculación *sub-cutánea* es el que más se emplea, por ser el de resultados más positivos. Para esas inyecciones *hipodérmicas* suele escogerse la jeringa inventada por Koch, la cual consiste en un cilindro de cristal armado de una punta ó aguja de trócar. Se elige la región del cuerpo en que el tejido celular sub-cutáneo es flojo. Se tira de la piel haciéndole formar un pliegue regular (fig. 87); se quema con el hierro candente un espacio muy limitado de este mismo sitio, y se introduce la cánula de la jeringa, que se ha tenido la precaución de esterilizar, á la llama. Se vacía el contenido de la jeringa, el cual se desparrama por el tejido pinchado. El medio ambiente, que debe servir, es un caldo de cultivo ó del líquido esterilizado, en el que se ha desleído perfectamente un cultivo puro.

En vez de formar artificialmente en un tejido una cavidad donde depositar la substancia de inoculación, se le puede inyectar en *cavidades naturales* del cuerpo. La *cámara anterior del ojo* ofrece grandes comodidades, por cuanto permite seguir fácilmente los progresos del desarrollo. Se pincha la córnea y se introduce una partícula de cultivo.

También se puede operar en la pleura ó el peritoneo con geringas de cánula acerada, evitando lesionar los órganos envueltos, pulmón ó intestino. Y lo mismo puede aplicarse este procedimiento á los *órganos parenquimatosos*, hígado, bazo, pulmones.

Las inyecciones *intravenosas* tienen la gran ventaja de una acción mucho más rápida. Se comprime la porción de vena hacia su parte central para hincharla allí, y se mete la cánula por la pared más resistente. Vaciada la jeringa, se retira la cánula, y estrechándose los labios de la pequeña herida, se impide el derrame de sangre. La inyección se debe practicar en la dirección de la corriente sanguínea en cuanto sea posible. El líquido inyectado debe ser lo menos espeso que se pueda, no encerrando jamás grumos que podrían provocar accidentes embólicos. En el conejo se elige una de las venas de la oreja fácilmente accesible, ó bien se descubre la vena yugular por medio de una incisión, cuya dirección y longitud indica la figura 89.

Se sabe que Pasteur emplea la *trepanación* para inocular el virus rábico directamente en los centros nerviosos.

Respecto de las observaciones hechas sobre las bacterias por medio del microscopio, y de las cuales hemos hablado ya más arriba, Koch inventó un procedimiento de preparación por impresión, que da resultados muy interesantes en ciertos casos especiales. Una lámina muy limpia y esterilizada al calor, se aplica á la faz superior de un cultivo, apretándola ligeramente al mismo. Los elementos de la capa superior del cultivo se adhieren al cristal en la posición que ocupaban. Levantando suavemente la lámina se puede lograr que conserve sus relaciones en todo ó en parte. La preparación está sometida á los procedimientos ordinarios de fijación y coloración; pero no puede servir para los cultivos hechos en tubos, por más que sea muy aplicable á las colonias de cultivos hechos sobre placas ó sobre cristalizadores. Sobre todo es ventajosa para el estudio de las especies cuyas colonias afectan formas especiales ó características. La figura 90 representa una de esas operaciones

sobre el *bacilo de la tuberculosis*. La disposición y agrupamiento de los palitos presenta un carácter tanto más importante, cuanto que no se les encuentra solamente de un modo constante en los cultivos especiales, sino que en el caso particular citado, afectan las mismas relaciones en el organismo cuando pueden vegetar abundantemente en un punto.

Para descubrir las bacterias en los líquidos se han de tener presente, á más de las precauciones expresadas, las reglas siguientes: Se coloca una gota de líquido en un cubre-objeto *perfectamente limpio*, con auxilio de un alambre de platino ó una varita de vidrio, previamente pasados por la llama y enfriados luego. El líquido se extiende en capa muy delgada. Los líquidos muy ricos en bacterias deberán diluirse con agua destilada, pura de gérmenes. Si el cultivo que se ha de hacer es muy espeso, se diluye una partícula en una gota de agua pura, y si se trata de líquidos espesos, viscosos, como sangre, pus, salivas, etc., se extienden en estrías sobre la plancha con la punta del alambre, ó se les aplasta entre dos planchas que luego se separan frotando una con otra. Las planchas se secan á una temperatura suave ó en un desecador de ácido sulfúrico ó cloruro de calcio, al abrigo del polvo, poniendo arriba la cara cargada.

La delgada película, obtenida por desecación, se adhiere pasando tres veces la plancha sometida por medio de unas pinzas finas á la llama azul de un mechero de Bunsen ó de una lámpara de alcohol. Luego se deposita en el baño colorante contenido en un crisol de vidrio frío ó calentado hasta 50-60° con la cara preparada vuelta abajo, de manera que el líquido la moje completamente sin burbujas de aire interpuestas. La coloración exige un tiempo variable según la preparación, y se vigilan sus progresos levantando de vez en cuando la planchita con las pinzas.

Con agua abundante se lava la preparación hasta que deje de dar color. Cuando la capa colorida se deslíe, lo cual puede suceder con los líquidos que no contienen materias coagulables ó con ciertas especies que no se pegan fácilmente á la planchita, se ha de evitar el lavado, quitándose el exceso del baño colorante con el papel chupón.

Se procede entonces á la decoloración, si es necesario, agitando la plancha en alcohol puro, é interrumpiéndole con un lavado al agua, que debe casi siempre ser inmediato, ó con la evaporación del alcohol que moja la plancha si la acción es lenta, ó depositando en la planchita una gotita de solución en tercio de ácido azoico y pasando rápidamente por agua así que empieza á verse la coloración verde-amarilla. Puede entonces tratarse por un baño diferente para obtener una coloración doble que á menudo es necesaria cuando el líquido contiene otros elementos que se han de estudiar igualmente.

Para buscar las bacterias en los tejidos animales, cuando éstos se hallan llenos de jugos, se puede, exprimiéndolos, obtener líquido que encierre bacterias, el cual se tratará como acabamos de expresar. Pero fuera de este caso especial se han de cortar los tejidos en pequeñas tiras con auxilio de micrótomos. Si los tejidos que han de estudiarse son frescos ó sanos, lo cual se presenta pocas veces, se cortan, después de congelarlos, con los aparatos usados en los laboratorios.

Generalmente los órganos que han de examinarse se endurecen, reducidos á pedacitos, en los líquidos empleados al efecto en histología. El *ácido crómico* al 5 por 1.000, los *cromatos alcalinos* y sobre todo la muy conocida solución, denominada licor de Müller:

Bicromato de potasa.	2
Sulfato de sosa.	1
Agua destilada.	100

son reactivos muy endurecedores. Sin embargo, favorecen la producción de precipitados granulosos de materias proteicas, que se colorean con los colores de anilina y pueden perjudicar la operación ó ser tomados por *micrococos*.

El ácido ósmico puede ser muy cómodo, pero comúnmente ennegrece demasiado, y hace perder en parte á las bacterias la propiedad de tomar color. Por esto se emplea con gran acierto el alcohol como principal endurecedor, si bien tiene el grave inconveniente de contraer los elementos celulares, lo cual se evita en parte empleando sucesivamente baños de fuerza diferente, poniendo primero el objeto en alcohol á 60°, trasladándolo después al de

80°, 90° y por fin al alcohol absoluto ó puro. Las piezas que han estado mucho tiempo en el alcohol, no dan, sino raras veces, buen resultado, puesto que las bacterias que encierran, no se coloran casi ya con las soluciones empleadas.

Los tejidos endurecidos se dividen en pedacitos lo más delgado posible por medio de micrótomos.

Esos pedazos se coloran vivamente de color violado con la genciana ó la fucsina. Loffler recomienda la solución alcalinizada de azul de metilena. El tiempo necesario es muy vario, pues unas veces la coloración es bastante intensa á los pocos minutos y á veces necesita horas. Pero una segunda coloración no suele ser perniciosa.

La decoloración y la doble coloración son indispensables para hacer distinguir las bacterias, á veces raras, mezcladas entre los elementos de los tejidos. La decoloración puede hacerse en el alcohol absoluto; los pedazos se colocan, con auxilio de una espátula, en el alcohol absoluto y se agitan con precaución. La duración de la decoloración suele ser larga. El método de Gram da resultados particularmente buenos; los pedazos se colocan en la solución yodo-yodurada hasta que hayan tomado un color pardo obscuro, y luego se ponen en el alcohol absoluto hasta la decoloración. Los tejidos se quedan coloridos de amarillo por este último procedimiento.

CAPÍTULO X

CLASIFICACIÔN Y DESCRIPCIÔN BACTERIOLÔGICAS

DISTAN mucho de ser conocidos los tres grandes grupos de bacterias, y es probable que aun queda por conocer y describir la mayor parte de ellas. Los primeros clasificadores se atuvieron únicamente á la forma aparente, y en este sentido Dujardin hizo la división de los tres géneros siguientes:

Bacterium: filamentos rígidos, movimientos vacilantes.

Vibrio: filamentos flexibles, movimientos ondulatorios.

Spirillum: filamentos en hélice, movimiento rotatorio.

Las formas esféricas eran en su mayor parte desconocidas. Sin embargo, algunas especies del grupo de las *mónadas* son *micrococos*. En la actualidad puede afirmarse que hay entre las bacterias varias especies con caracteres fijos que se reproducen y perpetúan sin variar. La cosa está fuera de duda para algunas, como el *bacillus anthracis, bacillus subtilis, bacillus butyricus, bacillus megaterium.*

Zopf relacionó, por el desarrollo de una bacteria filamentosa, el *cladothrix dichotoma* á toda una serie de formas en *coccus*, palitos, filamentos curvos ó espirales. Atribuyóse después grande importancia á esa variedad de formas pertenecientes á un tipo especial y absolutamente distinto de las otras bacterias. Los filamentos (fig. 21), unidos por un modo especial en falsa ramificación, están constituídos, al principio, por largos artículos, rectos, ligeramente curvos ú ondulados, más no verdaderamente espirales como en la parte derecha de la figura.

Los nombres de *micrococo, bacilo, leptotrix, espirilo*, de que se usaba para designar las varias fases de una misma especie, no deben emplearse con su verdadera significación, sino en sentido más general. Lo mismo debe tenerse en cuenta al tratarse del bacilo descrito por Kurth con el nombre de *bacterio Zopfii.* En los cultivos de esta especie en medios sólidos se ven á menudo filamentos apelotonados, de los cuales pueden ciertas partes presentar ondulaciones bastante regulares, que recuerden las formas de largos *espirilos* (figura 91, A). Al cabo de poco tiempo esos filamen-

tos se segmentan y se convierten en masas apretadas de cortos palitos (B). Hasta aquí nada hay anormal, pues sabemos que muchos bacilos verdaderos pueden dar filamentos más ó menos largos. Pero así que el medio nutritivo se agota completamente, las masas antes formadas de palitos se encuentran constituídas por *coccus* esféricos, que nunca se dividen (C), si bien que, colocadas en condiciones favorables, germinan dando palitos semejantes á los primeros, y además ofrecen mayor resistencia que las otras formas á las condiciones del calor y desecación. Tales son los caracteres de los esporos, y así deben ser considerados.

Ya en 1872 Cohn dió un primer ensayo de clasificación científica de las bacterias, si bien que basado también en la forma aparente. Formaba cuatro tribus, á saber:

Esferobacterias ó bacterias esféricas, no comprendiendo más que el género *micrococcus;*

Microbacterias ó bacterias en cortos palitos, comprendiendo el género *bacterium;*

Desmobacterias ó bacterias filamentosas, con los géneros *bacillus* y *vibrio.*

Espirobacterias ó bacterias espirales, con los dos géneros *spirillum* y *spirochætæ.*

Habiendo notado este mismo sabio las afinidades que ciertas bacterias presentan con las algas, de la familia de las *oscilariadas* principalmente, las reunió en la clase de las *esquizofitas*, ordenando en un mismo sistema muy complicado séres que eran evidentemente muy distintos.

Esto no era sino un primer paso hacia una clasificación racional. La gran falta consistía en separar, demasiado, formas vecinas, como los *bacterium*, *bacillus, vibrio*. Zopf (1) ha imaginado una clasificación en familias, que atiende en parte á las consideraciones anteriores, haciendo gran caso de ciertos caracteres poco precisos. La forma es la que se considera todavía en primer lugar; luego la presencia ó falta de esporos, sin poder suministrar una base sólida á causa de los pocos datos ciertos que se tienen, y finalmente, como distinción muy importante, da esas pretendidas variaciones de forma, sobre cuya apreciación se está lejos de haber acuerdo. Incluye las bacterias en las cuatro familias siguientes:

1.ª Cocáceas.—No tiene sino cocos *(coccus)* aislados ó unidos en forma de cadena.—Sin esporos conocidos.—La división se verifica según una ó varias direcciones.

Géneros: *streptococcus*, *micrococcus, merismopedia, sarcina, ascococcus.*

2.ª Bacteriáceas.—Tienen cocos, palitos rectos ó curvos y filamentos también rectos ó curvos. No se puede distinguir en los filamentos ni parte basilar ni ápice. La división se hace según una sola dirección. Se conocen esporos en muchas.

Géneros: *bacterium, spirillum, vibrio, leuconostocus, bacillus, clostridium.*

3.ª Leptotríceas.—Con cocos, palitos y filamentos rectos ó curvos, en los que se encuentra una diferenciación en parte basilar y ápice. Los esporos son poco conocidos.

Géneros: *leptothrix, beggiatoa, crenothrix, phragmidiothrix.*

4.ª Cladotríceas.—Con cocos, palitos, filamentos y formas espirales. Los filamentos están unidos en ramificación falsa. Los esporos son poco conocidos.

Género: *cladothrix.*

Muchas objeciones pueden hacerse á este sistema que, no obstante, satisface más el espíritu que los diversos ensayos de Cohn. Hemos discutido anteriormente el valor de estas variaciones de formas, que sirven aquí de carácter importante; no volvamos á ello.

De los cinco géneros de la familia de las *cocáceas,* los tres primeros no pueden conservarse como distintos. Hemos desechado el género *streptococcus.* El género *merismopedia* puede también confundirse con el que precede; ambos son *micrococcus* dispuestos en tetradas: ahora bien, sabemos que esta clasificación es frecuente, pero muy irregular. El género *leuconostocus*, que Zopf incluye en la familia de las bacteriáceas, presenta muchas más afinidades con los géneros de la familia de las cocáceas.

La familia de las bacteriáceas es más homogénea. El número de géneros debe reducirse. No es posible separar un género *bacterium* del género *bacillus;* los solos caracteres de longitud, en que se funda, tienen un valor

(1) Zopf, *Die Spaltpilze*, p. 50.

muy secundario y además no presentan ninguna constancia. El género *vibrio* se confunde con el *spirillum*. En fin, el género *clostridium*, creado por Prazmowski para los *bacillus butyricus*, caracterizado por el abultamiento de los artículos en donde se produce el esporo, no puede sostenerse, vista la poca constancia que ofrece esta particularidad. Muchos *bacillus* verdaderos, en efecto, dejan ver todos los intermedios entre el palito esporífero de forma ordinaria y el mismo artículo abultado en el sitio del esporo. Antes de tener nociones más completas sobre un número suficiente de especies, parece temerario subdividir un grupo tan homogéneo como es el género *bacillus*.

La tercera familia, la de las leptotríceas, es principalmente la peor formada. Al lado de los *leptothrix*, que ningún carácter separa de las bacteriáceas, se encuentran colocados organismos absolutamente distintos de las demás bacterias. Los *beggiatoa* y *crenothrix*, si, empero, no deben agruparse con las algas y clasificarse en las oscilariadas, ha de distinguirse evidentemente, y deben constituir una familia aparte.

En cuanto á los *cladothrix*, parecen muy vecinos de los *leptothrix*; la disposición en ramificación falsa de los filamentos, muy secundaria, no basta para ligitimar semejante distinción.

Basándose en las razones expuestas, parece más racional dividir el grupo de las bacterias en tres familias del modo siguiente:

1.ª Familia: Cocaceas.—Bacterias con elementos normalmente esféricos; se reproducen comúnmente por división, á veces por esporos. La división puede verificarse según una ó varias direcciones.

Géneros:

1. *Micrococcus*. Elementos esféricos, aislados, reunidos en dos ó más, ó dispuestos en forma de rosarios.

2. *Sarcina*. Elementos que forman paquetes cúbicos, proviniendo de la división que se hace en tres direcciones.

3. *Ascococcus*. Elementos reunidos en colonias macizas, rodeadas de densas cubiertas de gelatina.

4. *Leuconostocus*. Elementos dispuestos en forma de cadena, y envueltos por una vaina gelatina.

2.ª Familia: Bacteriaceas.—Elementos en palitos más ó menos largos, á veces en cortos cilindros, ó en filamentos. Los artículos son rectos ó curvos y no presentan distinción alguna, en parte basilar y ápice. Muchos tienen verdaderos esporos endógenas.

Géneros: 1. *Bacillus*. Elementos en palitos que pueden ser cortos y gruesos, ó cuya longitud excede cierto número de veces del espesor.

2. *Spirillum*, elementos curvos, formando á menudo una espiral de varias vueltas.

3. *Leptothrix*, elementos que forman filamentos rectos, á veces muy largos.

4. *Cladothrix*, largos filamentos dispuestos en ramificación falsa. Verdaderos esporos.

3.ª Familia: Beggiatoaceas.—Elementos en palitos ó filamentos, en donde se distingue una parte basilar á menudo fija y un á picelibre. Se forman en el interior artículos de los cuerpos esféricos que son probablemente esporos.

Géneros: 1. *Beggiatoa*, filamentos sin vaina de gelatina.

2. *Crenothrix*, filamentos con una vaina gelatinosa.

Esta última familia debe quizás separarse del grupo de las bacterias y aproximarse á ciertas algas de agua dulce, las oscilarias, de las que difiere por la falta de clorofila y del pigmento especial, la ficocianina.

La clasificación que acaba de exponerse no debe de ningún modo considerarse como definitiva. Tiene principalmente por objeto expresar las relaciones que se sabe, hoy, que existen entre las formas suficientemen tedescritas, y de facilitar su descripción y estudio. Bajo este último punto de vista, una agrupación por poco racional que sea, es de una utilidad incontestable. Así es, en efecto, que sólo estableciendo puntos de referencia más seguros y conformándose en las descripciones á las reglas admitidas en todas las clasificaciones, será posible poner un poco de orden en la lista, ya muy larga, de las especies conocidas actualmente. Muchos trabajos buenos, en particular, no dan los resultados que se tenía el derecho de esperar, por la razón de que

sus autores desgraciadamente no han mirado de caracterizar las especies objeto de sus investigaciones, lo que no permite reconocerlas fácilmente.

1.ª Familia: Cocáceas.—Las células de las bacterias que constituyen esta primera familia, son normalmente esféricas ó ligeramente ovoídeas, á veces asimétricas, estando uno de sus lados plano. No se observan formas oblongas sino en condiciones completamente anormales; son verdaderas formas de involución. La formación de esporos sólo es conocida en algunas especies. En el *leuconostocus mesenteroides* ciertos elementos de las cadenas de cocos aumentan, toman una pared espesa y un contenido refringente, caracteres habituales de los esporos; son esporos de un tipo especial, de los *artrosporos*, despojos de la transformación total del elemento madre. *Endosporos* se han descrito recientemente en otras especies. Hauser (1) los ha observado en una *sarcina*, que presentaba perfectamente la doble coloración propia de los esporos de otras bacterias y soportaba sin perecer una temperatura de 110°. Prove (2) señala en el *micrococcus ochroleucus* la formación de esporos, que en la madurez tienen un diámetro doble que el del elemento madre. Salvo los tres casos citados, la formación de elementos reproductores resistentes y durables es desconocida en toda otra especie. El procedimiento habitual de multiplicación es la división que puede verificarse, ora en una sola dirección, ora en varias. En el primer caso, los elementos originados por la división pueden separarse ó quedar unidos de dos en dos ó más; forman según la especie masas irregulares, parejas ó rosarios. Si la división se hace según dos planos perpendiculares, un elemento que se parte en cruz da cuatro; y se obtiene entonces una pequeña tablita que puede componerse de gran número de elementos, cuando el fenómeno se ha repetido cierto número de veces. Finalmente, una célula madre puede dividirse sucesivamente, según tres planos perpendiculares, y da así dieciséis células hijas que quedan unidas y se multiplican á su vez del mismo modo de esa manera se forman las aglomeraciones cúbicas de *sarcinas*, compuestas á menudo de un número considerable de elementos.

La familia de las cocáceas comprende cuatro géneros, caracterizados del modo siguiente:

1.er Género: *micrococcus*.—Células redondas ú ovoideas, aisladas ó dispuestas en parejas, en rosario, de un número variable de elementos, ó en tetradas. La división se opera según una ó dos direcciones.

2.° Género: *sarcina*.—Células esféricas ú ovoideas, en las cuales la división se opera en tres direcciones y da entonces masas cúbicas más ó menos voluminosas.

3.er Género: *leuconostocus*.—Células redondas, reunidas en forma de rosario rodeadas de una espesa vaina de gelatina: se forma de los artrosporos.

4.° Género. *ascococcus*.—Células redondas, reunidas en familias ovoideas é irregulares cerradas en una envoltura espesa de substancia gelatinosa de consistencia de cartílago.

1.er Género: micrococcus Cohn.—El nombre genérico es de Hallier, que comprendía bajo esta denominación, al lado de las bacterias esféricas, gran número de formas bien distintas. Cohn es quien ha fijado sus caracteres y le ha asignado los anchos límites que se pueden todavía reconocer hoy. Las especies que le constituyen tienen las células esféricas ó ligeramente elípticas, quizás ovoideas de forma perfectamente regular ó un poco irregular: un elemento próximo á dividirse puede también tener la forma de una elipse oblonga ó de un corto bastoncillo. Las células originadas por la división se desarrollan de diversos modos. Pueden separarse al punto, y forman entonces masas cuyos elementos no tienen entre sí coherencia alguna. Por más que se separen desde que la excisión es completa, pueden quedar adheridas unas á otras en número variable, dando figuras irregulares que han sido comparadas indebidamente á racimos y denominadas por esta razón *staphylococcus*. Estas células hijas quedan á menudo unidas de dos en dos; en muchas

(1) Hauser, *Ueber Lungensarcine* (*Deutsches Archiv für kl. Medic.*, XLII, 1887, pág. 127.

(2) Prove, *Micrococcus ochroleucus, eine neue chromogene Spaltpilze* (*Beiträge zur Biol. der Pflanzen*, 1877, 4.° vol., 3° p., p. 409).

especies que presentan esta disposición los elementos aislados son raros, no se observan generalmente sino parejas, formadas de dos cocos apegados, que proceden siempre como si no constituyesen más que un sólo individuo: precisan á menudo una gran atención y poderosos objetivos para darse cuenta de la presencia de dos elementos. Esta última forma se ha denominado *diplococcus*. Cuando dos parejas se adhieren lateralmente se forma una tetrada. Los elementos pueden quedar unidos en filas más ó menos largas, y forman rosarios cuyo grandor varía según el número de artículos que le constituyen: se ha dado á esta disposición el nombre de *streptococcus*. Se ha querido hacer de esos caracteres, verdaderos caracteres genéricos, atribuyéndoles una importancia de que parecen carecer, y servirse de ellos para establecer secciones en el género *micrococcus*, tal como lo comprendemos aquí. Las relaciones que afectan los elementos entre sí, están sujetas á muchas variaciones, cuyas causas han pasado completamente desapercibidas hasta ahora, para que se pueda racionalmente colocarlas en primera línea. Las condiciones del medio influyen considerablente sobre ellas; una especie que cultivada en un medio sólido daría cadenillas ó diplococos, transportada á un medio líquido sólo dejaría ver elementos medio aislados. Además, una especie puede ofrecer estas tres formas en un mismo cultivo, lo cual prueba el papel secundario de la disposición de los elementos para la clasificación. En fin, los mismos hechos se encuentran absolutamente indicados en las bacterias en palitos sin que se haya juzgado á propósito conformarse con las indicaciones que parecen suministrar. El valor de estas formas es no obstante, real y puede ser muy útil en la diagnosis y en la diferenciación, á menudo tan difícil, de especies que se parecen por sus caracteres de cultivos.

Recientemente Prove (1) ha descrito la formación de esporos en el *micrococcus ochroleucus*, especie que pudo aislar. Hasta entonces no eran conocidas en especie alguna de *micrococcus*. Es probable que los perfeccionamientos de la técnica permitirán observar su producción en otras.

Citemos finalmente, como carácter menos importante y que, sin embargo, interesa conocer, la poca tendencia de los *micrococcus* á formar velos en la superficie de los líquidos. Se precipitan finalmente al fondo del limo en un sedimento más ó menos consistente, blanco ó coloreado. Además, las especies móviles no presentan nunca el movimiento vivo y rápido que ofrecen ciertas bacterias en forma de palitos; el movimiento de los *micrococcus* es siempre una trepidación, con la que generalmente avanzan poco.

Para mayor comodidad en la descripción de las numerosas especies de *micrococcus* y únicamente para facilitar su estudio, los agruparemos, al ejemplo de Cohn, según su acción fisiológica. Estudiaremos, en un primer grupo, las especies encontradas en las enfermedades del hombre y de los animales, reuniendo á las especies verdaderamente patógenas otras que no parecen tener acción perjudicial sobre el organismo enfermo ó bien normal, pero que no se encuentran fuera de él; tales son, por ejemplo, ciertas especies aisladas del pus. Varias especies, en efecto, que, encontrándose en el organismo, parecen no ejercer sobre él acción dañina alguna, pueden probablemente, por su perturbación excesiva, en condiciones que les sean favorables, convertirse en verdaderos parásitos, incómodos ó aun ofensivos. Los *micrococcus* que producen pigmentos son más interesantes para estudiarlos reunidos. En un tercer grupo comprenderemos las especies que ocasionan fermentaciones y y cuya acción fisiológica es todavía desconocida.

Agruparemos en las especies del género *micrococcus*, bajo las designaciones siguientes, á las cuales, repitámoslo, no atribuímos valor alguno en la clasificación.

1.° Especies patógenas.
2.° Especies cromógenas.
3.° Especies fermentos, ó de acción indiferente.

(1) Prove, *Micrococcus ochroleucus, eine neue chromogene Spaltpilze (Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, 1887, 4.° vol., 3.ª p., p. 409).

CAPÍTULO XI

ESPECIES PATÓGENAS

Micrococcus pyogenes aureus Rosenbach. Aisló Pasteur (1) del pus de forúnculos y de osteomielita bacterias redondas, cuyos cultivos puros, inoculados en conejos, produjeron en ellos fenómenos locales de supuración. Luego, numerosas investigaciones, entre las que deben citarse principalmente las de Ogston (2), Rosenbach (3), Passet (4), han demostrado, con toda evidencia, que el contenido de los abcesos, abiertos con las precauciones requeridas para evitar la invasión de géneros extraños, encerraba siempre *micrococcus*, exceptuando naturalmente los llamados *tumores fríos*, de origen casi siempre tuberculoso, que encierran, como se sabe, un bacilo especial. Experimentos concluyentes, en particular los de Strauss (1), han establecido las relaciones directas de estas bacterias con la producción de pus y demostrado perfectamente que para que haya supuración verdadera, es necesaria la presencia de las bacterias. Substancias iritantes ó inertes, esterilizadas con cuidado, introducidas bajo la piel con las precauciones antisépticas más minuciosas después de la cauterización de la superficie, no producen nunca más que simples fenómenos de irritación, son *flogógenas*, pero nunca *piógenas*. Así es que la esencia de trementina, de aceite de crotón diluído con aceite de almendras dulces, del mercurio, del agua hirviente, de los pedazos de lienzo, de corcho, de médula de sauco, siempre desinfectados con cuidado, introducidos bajo la piel de conejos, de cobayas y de ratas, sólo determi-

(1) Pasteur, «Extensión de la teoría de los gérmenes á la etiología de algunas enfermedades comunes (Informe de la Academia de Ciencias», 1880, t. CX, p. 1033).

(2) Ogton, *Report upon Microorganismen in surgical diseases (The British medical Journal,* 12 mars 1881).

(3) Rosenbach *Microorganismen bei den Wundinfections-Krankheiten der Menschen.* Wiesbaden, 1884.

(4) Passet, *Untersuchungen über die Aetiologie der eitrigen Phlegmone des Menschen.* Berlin. 1885.

(1) Straus, *Papel que desempeñan los microorganismos en la producción de la supuración (Sociedad de biologia,* 13 diciembre 1883).

nan una simple inflamación plástica sin supuración, cuando se ha evitado con certeza la intervención de las bacterias.

Esta propiedad piógena es debida á varias especies de bacterias que pertenecen en su mayor parte al género *micrococcus;* una sola es un corto bacillo, el *bacillus pyogenes fœtidus*. Algunas tienen una acción patógena bien evidente, probada por las inoculaciones experimentales; otras, aunque hasta ahora parecen no encontrarse en esas colecciones purulentas, no parecen perjudicar en modo alguno á los organismos en los cuales se les introduce. Sin embargo, no es posible separar el estudio de estos últimos del de los otros cuyos efectos son bien conocidos; su presencia exclusiva en un estado patológico debe bastar para colocarlos entre las bacterias patógenas, al menos hasta que sean encontradas libres en la naturaleza, viviendo en saprofitos. Pasteur aisló del agua del Sena un *micrococcus pyogenes*, su *vibrion pyogenes,* que luego no se ha vuelto á encontrar. Es un coco oval que forma á menudo diplococos, cuyos cultivos, ingertados en la sangre, determinan una piemia típica rápidamente mortal.

Las bacterias piógenas pueden hacer simple evolución en focos circunscritos, y entonces sólo producen una acción local; ó bien, del punto primitivo de introducción, esparcirse en la circulación por la vía sanguínea ó linfática y producir fenómenos graves de infección, estudiados con las designaciones de *piemia* ó de *septicemia*. Esos estados mórbidos pueden ser verdaderas intoxicaciones debidas á la llegada en la sangre de alcaloides tóxicos, de eptomainas, residuos de la actividad vital de las bacterias. En otros casos la acción se concentra sobre ciertos órganos, lejos del punto de penetración, en donde se forman focos secundarios de inflamación, abcesos *metastáticos*.

Esos agentes infecciosos llegan al organismo por vías diversas, y la mayor parte de las veces es por una solución de continuidad, por pequeña que sea; puede ser una simple escoriación lo mismo que una llaga de gran superficie; y se halla en el caso de la infección puerperal la ancha llaga uterina, producida por la caída de la placenta. Ni siquiera la piel sana, que no presenta solución de continuidad alguna, es barrera suficiente para oponerse á la invasión. Las experimentos de Garré (1), que ha podido determinar en su brazo la formación de un antrax, frotando simplemente la piel de esta parte con un cultivo puro de osteomielita, lo prueban perfectamente. Las bacterias penetran entonces probablemente en primer lugar en los canales excretores de las glándulas cutáneas, y de allí invaden las capas profundas. A menudo el efecto es inmediato; en las auto-inoculaciones de Garré, la inflamación ha alcanzado en algunos días su máximo de intensidad. A veces, al contrario, los accidentes determinados por la infección primitiva son nulos ó poco apreciables; los gérmenes patógenos dormitan, por decirlo así, en el organismo, hasta que se producen modificaciones especiales que provocan la pululación. Por tanto, según Verneuil (2), una simple contusión, sin el menor rasguño superficial, provocaría la aparición de una osteomielita, cuyos gérmenes estarían desde mucho tiempo encerrados en el organismo. Sabemos por las investigaciones de Duclaux (3), que las bacterias, cuando se prescinde de las condiciones de vegetación que las debilitan, cuando se las conserva por ejemplo en un medio nutritivo agotado sin dejar á su disposición más que una proporción muy débil de oxígeno, conservan por mucho tiempo su poder vegetativo y su virulencia. Ahora bien, la misma protección puede dárseles en el organismo, en donde conservan entonces por mucho tiempo sus propiedades patógenas, que pueden manifestarse desde que se producen circunstancias favorables al desarrollo.

Entre los *micrococcus* piógenos, la especie más frecuente y sin duda más interesantes es el *micrococcus pyogenes aureus*.

Se le encuentra en muchas supuraciones,

---

(1) Garré, *Zur Aetiologie acut. eitriger Entzundungen (Fortschritte der Medicin,* 1885, nº 6).—Socin, *Patogenia de la supuración (Congreso francés de cirugía,* 1885).

(2) Verneuil, *Parasitismo micróbico latente (Boletin de la Academia de medicina,* 1886).

(3) Duclaux, *Química biológica.*

en particular en el pus de los forúnculos, de los antrax, de la osteomielita, de muchos flemones, y según Rosenbach, se encuentra principalmente en el pus de color amarillento. Garré (1) le ha señalado en la sangre de un enfermo afectado de osteomielita. Ha sido encontrado en el sarro dentario y en la capa de materia purulenta lingual por Vignal (2), en donde está quizás relacionado con la presencia de los dientes cariados, y existe probablemente en la piel en estado normal.

Son cocos esféricos, que miden de 0'9 μ á 1'2 μ de diámetro, aislados en diplococos, dispuestos en cuatro ó en cortas cadenas, con tres ó cuatro artículos á lo sumo; muy á menudo se agrupan en masas irregulares, que se han comparado á racimos, y de aquí el nombre de *staphylococcus* propuesto como designación genérica. La figura 92 presenta esta última disposición que afecta la de numerosos elementos reunidos entre sí. Es muy raro que se encuentren en las preparaciones formas tan completas como la representada aquí. Las aglomeraciones están constituídas por un número mucho menor de cocos, como lo indica la figura 93 que reproduce su apariencia habitual. Ciertamente á veces hay cocos contenidos en el interior de los glóbulos de pus. Estos *micrococcus* se colorean perfectamente con los colores de anilina y no se hacen incoloros por el método de Gram.

Sembrada en el caldo, esta especie lo enturbia rápidamente á 30°; se forma en el fondo del recipiente un depósito poco abundante, al principio blanco y luego amarillento. El líquido queda siempre turbio.

Los cultivos en un medio sólido se caracterizan de otra manera. El *micrococcus pyogenes aureus* liquida rápidamente la gelatina. En cultivo sobre placas, da al cabo de 48 horas, á una temperatura de 18°-20°, pequeñas colonias redondas, grisáceas, que aparecen con un débil aumento, así como pequeños discos de un color moreno amarillento claro con la luz transmitida, y de un hermoso amarillo de oro brill nte sobre fondo negro; el contenido es granuloso y los bordes muy distintos (fig. 94, 1). La colonia se extiende poco á poco y, al cabo de cuatro ó cinco días, está formada de una parte central obscura, opaca, que representa la colonia primitiva, y de una zona anular formada de gelatina liquida turbia (fig. 94, 2). La licuación se extiende y produce muy pronto en la gelatina un ancho surco que contiene un líquido turbio, á veces ligeramente amarillento. Los cultivos sobre placas desarrollan desde el segundo día un olor penetrante que recuerda el de la leche agria.

Por picadura dentro de un tubo de gelatina, el desarrollo es más rápido todavía. Después de 24 horas á 20°, una masa granulosa, amarillenta, llena el canal de la picadura en su mayor longitud; no se observa casi nada en la superficie. En cuarentiocho horas, se ha formado una cúpula de licuación perfecta, llena de un líquido blanquecino turbio; las pequeñas colonias que se han formado en el surco de la picadura no progresan apenas. Del tercero al quinto día la cúpula de licuación aumenta y alcanza los bordes del tubo, el líquido es lechoso, de un color blanco amarillo. Del sexto al séptimo día, un centímetro en derredor de la jalea está licuado. La licuación no avanza entonces sino muy lentamente y se detiene á menudo á una buena distancia del fondo de la masa de jalea, probablemente á causa de la falta de oxígeno. El cultivo tiene el aspecto que representa la figura 95. En la parte superior se encuentra una capa líquida, muy turbia, ligeramente viscosa, que puede coronar á veces una película regular blanca ó amarillenta, muy viscosa, que se estira en largos hilos cuando se la toca con el hilo de platino. Sobre la gelatina sólida se encuentra un depósito espeso de color anaranjado amarillento. En el resto del canal, se ve, como al principio, pequeñas colonias grisáceas y á veces pequeñas masas muriformes de color amarillo de oro.

Limitándose á tocar simplemente la superficie de la gelatina con la aguja cargada de la substancia sembrada, se produce una forma de cultivo muy especial, representada por la figura 96. Se observa al cabo de algunos días, un saco de licuación siempre irregular y

(1) Garrer, *loc. cit.*
(2) Vignal, *Estudios sobre los microorganismos de la boca. (Archivos de fisiología,* 1886, nº 8, p. 326).

presentando uno ó dos estrangulamientos poco pronunciados que le hacen asimétrico. La gelatina liquidada es turbia; existe en la punta del saco una pequcña masa algodonada de un color blanco amarillento.

Sobre gelosa en estría, se forman primero á lo largo de la línea de inoculación pequeñas colonias blancas que confluyen muy pronto y forman una banda delgada y lisa, que se colorea de amarillo anaranjado, recordando muy bien un ancho toque de color al oleo de este matiz. El cultivo puede continuar creciendo durante mucho tiempo. Al cabo de algunas semanas se obtiene un espeso cultivo de apariencia grumosa, de un color amarillo anaranjado brillante, cuyos bordes ondulados pueden ser blanquecinos (fig. 84). Envejeciendo, la parte central se vuelve mamelonada ó se dividide en surcos longitudinales.

En patatas y en suero, esta bacteria da una espesa capa de color amarillo de oro ó amarillo anaranjado. En cultivo dentro de la leche, produce ácido láctico que coagula muy pronto este líquido.

Todos los cultivos desarrollan un olor agrio especial que se percibe al cabo de muy poco tiempo. En los cultivos jóvenes, el olor es el de la cola de harina fermentada; en los viejos es el de la leche agria.

La materia colorante sólo se produce al aire; bajo una capa de aceite el cultivo progresa lentamente, pero se conserva blanco. Después de algunas generaciones, la coloración se hace menos viva y más difícil; á menudo sólo el centro del cultivo se colorea, y la periferia se conserva blanca. Los cultivos viejos sembrados de nuevo sobre gelatina, la liquidan con mucha más lentitud. Sin embargo, estos cultivos guardan mucho tiempo su vitalidad, y pueden todavía fertilizar nuevos medios después de más de un año de existencia.

Brieger (1) ha aislado de cultivos sobre pasta de carne de esta especie pequeñas cantidades de una base orgánica, que no le ha dejado ver ningún efecto tóxico. El clorhidrato de esta eptomaina cristaliza en agujas incoloras inalterables por el aire.

(1) Brieger, *Microbios, eptomainas y enfermedades.* traduc. París, 1887.

Los cultivos son virulentos y conservan mucho tiempo su poder infeccioso. Las inoculaciones hechas bajo la piel, sólo dan, casi siempre, una inflamación que queda localizada. Se forma, en el punto elegido, un abceso más ó menos grande que se cura fácilmente. Cuando la cantidad de materia introducida es corta, el efecto puede ser casi inapreciable. Garré sólo ha determinado accidentes locales untando su brazo con una gran cantidad de producto de cultivos recientes. A veces, sin embargo, la infección se generaliza y la muerte se sigue con los síntomas típicos de la piemia. No sucede lo mismo con inyecciones intravenosas. El parásito se desparrama entonces por las vías sanguíneas de todo el organismo y produce su acción necrobiótica en diversos puntos, localizándose principalmente en ciertos lugares predilectos. Así es como se amasa á menudo en los riñones, produciendo una verdadera nefritis séptica. Según Rodet (1), inyectado en la sangre, muestra una verdadera preferencia por los huesos, y allí actúa especialmente sobre las partes de más rápido crecimiento; determina en el conejo lesiones de osteita yuxta-epifisaria, comparable á la de la enfermedad humana. Este mismo experimentador ha venido á producir una especie de osteomielita combinando, con la inoculación intravenosa, una lesión traumática de los huesos. Wyssokowitsch (2), Ribbert (3), Bonome (4), han producido en los conejos endocarditis, inyectándoles en las venas caldo de cultivo; las lesiones residían principalmente al nivel de las válvulas en las cuales se observaban á menudo ulceraciones ó vegetaciones muy aparentes. Las localizaciones pueden ser numerosas, y el estado es entonces muy grave.

MICROCOCCUR PYOGENES ALBUS Rosenbach. —Acompaña con mucha frecuencia en el pus

(1) Rodet, *Estudios experimentales sobre la osteomielita infecciosa (Informes de la Academia de ciencias,* 1884, XCVIII, p. 569).

(2) Wyssokowitsch, *Ueber die Schicksale der in's Blut injicirten Microorganismen (Zeitschrift für Hygiene,* I, p., p. 3).

(3) Ribbert, *Ueber experimentell erzeugte Endocarditis (Berliner klinische Wochenschrift,* 1886, p. 450).

(4) Bonome, *Contribuciones al estudio de los estafilococos piógenos (Archivos italianos de biologia,* VIII, f. 1, p. 10).

al *micrococcus pyogenes aureus,* del cual tiene todas las apariencias, de tal suerte que es absolutamente imposible distinguirlos en las preparaciones microscópicas de este producto patológico. Rosenbach dice que se le encuentra principalmente en el pus de color blanquecino. Según Passet, es más frecuente que el anterior. Vignal lo ha señalado en el sarro dentario con el primero.

Las colonias de cultivos sobre placas tienen la misma forma que las del *micrococcus pyogenes aureus;* la gelatina líquida queda siempre lechosa, blanquecina, y nunca se mantiene amarilla.

En picadura dentro de un tubo de gelatina se desarrolla exactamente como el otro, pero la licuación se produce con más lentitud. Es principalmente con el que se observa la forma de cultivo representada en la figura 96, ya citada para la especie precedente, obtenida tocando simplemente la superficie de la gelatina del tubo con el hilo de inoculación. La gelatina liquidada es blanca, lechosa; deja depositar un sedimento blanco, denso. No se notan en su superficie los densos copos que se observaban en el anterior.

Sobre gelosa, á 30°-35°, se desarrolla con menos abundancia que su congénere. Forma primero manchas blancas que afluyen á una ancha capa de color blanco mate, parda, á menudo un poco irisada, que no es nunca muy saliente. Los cultivos presentan también gran viscosidad.

Sobre patatas da una membrana muy delgada y seca.

Faltan todavía investigaciones precisas sobre su acción patógena. Ribbert, en su memoria precitada, ha experimentado, al auxilio de los cultivos mezclados, las dos primeras especies, pareciendo admitir su identidad de acción. Esa es también la opinión que siguen, si bien que careciendo de pruebas directas, la mayor parte de los autores. Resiste durante mucho tiempo la privación de aire.

MICROCOCCUS PYOGENES CITREUS Passet.—Passet (1) lo da como muy frecuente en el pus con los precedentes. Sólo Bonome (2) lo ha encontrado, con el bacilo de la tuberculosis, en un caso de tuberculosis de la pleura.

Los caracteres del cultivo son los del *micrococcus pyogenes aureus*, salvo la coloración, que se parece á la del limón obscuro. Para ciertos autores, sólo es una variedad de este último.

MICROCOCCUS PYOGENES Rosenbach.—Es común en el pus, donde su presencia ha sido señalada por Ogston primero, luego por Rosenbach y Passet.

Se encuentran estos micrococos en el pus, raramente aislados ó unidos dos á dos, habitualmente en forma de cadenitas bastante cortas, de 5 á 10 elementos por término medio (fig. 97). En los cultivos, el tamaño de las cadenitas aumenta; las que se desarrollan en caldos muy nutritivos pueden estar formadas por un número considerable de cocos, á menudo por algunas centenas. Los rosarios son entonces flexibles, variasveces replegados sobre sí. Los cocos encontrados en el pus miden de 0'8 μ á 1 μ en término medio. Los de los cultivos varían en los más vastos límites; son muy pequeños en los cultivos viejos; en los cultivos en plenitud de desarrollo, al contrario, ciertos elementos de la grandes cadenas alcanzan y pasan aun del doble del diámetro de los vecinos, lo que les ha hecho considerar sin razón por ciertos autores como artrosporos. Tratados por el método de Gram, esos *micrococcus*, del pus ó de los cultivos, quedan siempre coloreados.

El caldo de carne es un medio á propósito para el cultivo de esta bacteria. A 30°, después del tercer día forma sobre las paredes de la vasija unas manchas blanquecinas, primero débiles, luego más y más densas, muy adheridas al vaso. Después de ocho días, la formación de manchas se detiene y se deposita al fondo un sedimento grisáceo, filamentoso, que se esparce por el líquido á la menor agitación.

En cultivo sobre placas, se obtienen pequeñas colonias puntiformes, redondeadas, granulosas que llegadas á la superficie, se despliegan en pequeños discos transparentes. Pronto se detiene el desarrollo; la gelatina nunca es licuada.

Inoculado en estría sobre gelatina, forma

(1) Passet, *Untersuchungen über die Aetiologie der eitrigen Phlegmone des Menschen.* Berlín, 1883.

(2) Bonome, *loc. cit.*

una colonia mucosa, blanca, á veces ligeramente parduzca, con bordes ondulados. El tercer cultivo no da nada más.

Sobre gelosa, á 30°-35°, se obtienen pequeños mamelones blancos de 2 á 3 milímetros de diámetro, que se desarrollan en toda la superficie del tubo. Para un buen desarrollo, precisa gelosa muy húmeda, y se verifica principalmente con abundancia en el exceso de agua que se reune en la parte inferior del tubo. En el cuarto cultivo la vitalidad se extingue, y no es posible obtener otras generaciones.

Sobre patatas no da ningún cultivo visible; pero si al cabo de algunos días se raspa la superficie de la sección, se observan numerosos cocos en la substancia quitada.

No parece tener gran necesidad de oxígeno; en el caldo se desarrolla muy bien bajo un velo denso y contínuo de *bacillus subtilis,* en las capas inferiores del líquido. Según otros observadores, descompone rápidamente la clara de huevo en el vacío. Sin embargo, nosotros sabemos que la vitalidad se pierde rápidamente en los cultivos después de algunas generaciones solamente y que, según Passet, los primeros cultivos sobre gelatina mueren completamente al cabo de tres meses.

Micrococcus pyogenes tenuis Rosenbach. —Rosenbach lo ha encontrado sólo en el pus de algunos abcesos que todavía no habían sido abiertos. Son cocos esféricos ó ligeramente ovalados, un poco mayores que los del *micrococcus pyogenes aureus;* está habitualmente aislados, á veces reunidos en pequeñas masas. Sobre las preparaciones coloreadas, parecen tener á menudo dos polos más obscuros.

Sobre gelatina no se observa ningún desarrollo.

Sobre gelosa el crecimiento es lento; se forma á lo largo de la estría una delgada faja brillante, transparente. En picadura, el canal se llena con ténue tallo blanco y opaco.

Hasta ahora es desconocida su acción sobre los animales.

Micrococcus cereus albus Passet.—Passet aisló esta especie del pus. No parece tener ninguna acción perjudicial sobre el organismo; las inoculaciones experimentales quedan siempre sin efecto, aun con fuertes dosis. Puede encontrarse en el interior de los glóbulos de pus y está entonces en diplococos. En el pus de la uretritis, puede haber confusión con el gonococo, pero este último se decolora por el método de Gram, que deja nuestra especie coloreada.

Los cocos tienen un diámetro muy irregular, que varía de 0'6 μ á 1'16 μ; están aislados, dispuestos por parejas, en pequeñas masas ó en cortas cadenas.

En cultivo sobre placas, se desarrollan, al cabo de tres días, colonias redondas, con bordes lisos, ligeramente granulosos, que se desenvuelven en la superficie de modo que forman pequeñas manchas blancas. La gelatina no se liquida.

En picadura en un tubo de gelatina se obtiene, en tres ó cuatro días, un cultivo blanco, formado á menudo de pequeñas masas perlinas contiguas; en la superficie se encuentra una mancha parda, mate, que se parece á una película de cera blanca.

Sobre gelosa se obtienen primero colonias redondas, de un color blanco mate, que se parecen á gotitas de estearina, luego un ancho revestimiento blanco algo pardo, con bordes irregulares, muy sinuosos, á veces dentados. A menudo el cultivo está formado de pequeñas colonias redondas, que se tocan ó se confunden. Los caracteres de los cultivos sobre sueros son idénticos.

Sobre patata se forma una capa gris más espesa en el centro que en los bordes.

El desarrollo es rápido en los caldos, á una temperatura de 30°-35°.

Micrococcus cereus flavus Passet.—Es también otra especie encontrada en el pus por Passet. Muy parecida á la precedente por los caracteres de los elementos, se distingue principalmente de ella por la coloración amarilla de sus cultivos. No liquida la gelatina y forma un revestimiento amarillo de limón obscuro, mate, que se parece á una gota de cera amarilla, con bordes irregulares algo gruesos. En picadura se forma en el canal una faja gris formada de pequeñas colonias redondas, adheridas unas á otras.

Las inoculaciones subcutáneas é intravenosas no han dado resultado alguno.

Micrococcus viridis flavescens Guttmann.

—Guttmann (1) ha encontrado este *micrococcus* en la linfa de una pústula de varicele, en compañía del *micrococcus pyogenes aureus* y del *micrococcus cereus albus*.

Son cocos esféricos reunidos en parejas ó más en pequeñas masas. Tienen el aspecto y las dimensiones del *micrococcus pyogenes aureus*: por eso no es posible distinguirlos en las preparaciones. Sólo los cultivos lo permiten; y seobtienen, por lo demás muy fácilmente, en todos los medios, en presencia del aire.

Sobre placas de gelatina se forman al cabo de cuarentiocho horas, colonias circulares con bordes lisos, coloreados en verde amarillento. Ligeramente granulosas al principio, luego se hacen completamente homogéneas. No liquidan la gelatina.

En picadura sobre gelatina, este *micrococcus* da un delgado tallo verdoso en el canal y en la superficie una pequeña colonia del mismo matiz; nunca produce liquefaccion.

Sobre gelosa ó sobre suero, se desarrolla un cultivo verdoso, que crece rápidamente. El caldo sembrado se enturbia en poco tiempo.

Esa bacteria parece no tener ninguna acción sobre los animales.

MICROCOCCUS ERYSIPELATIS Fehleisen.—Nepveu (2) ha señalado por vez primera la presencia de bacterias en la serosidad y la sangre de las placas de erisipela, y las describe como parecidas al *bacterium punctum* de Ehrenberg. Las investigaciones precisas de Fehleisen (3) han venido á probar y extender estos primeros datos y hacer rechazar la teoría de la espontaneidad de la erisipela, combatida ya con tanta persistencia por Verneuil (4), desde 1872. Los resultados obtenidos han sido confirmados por otros observadares, en particular Cornil (5) y Denucé (6), obligando á admitir el origen bacteriáceo de esta afección.

(1) Guttmann, *Bacteriologische Mittheilungen über Varicellen (Berliner klinische Wochenschrift*, n.° 46, p. 802).

(2) Nepveu, *Sobre la presencia de bacterias en la sangre de los erisipelatosos (Sociedad de biologia*, 1870, p. 164.)

(3) Fehleisen, *Die Ætiologie des Erysipels*. Berlin, 1883.

(4) Verneuil, *Memorias de cirugia*, t. IV.

(5) Cornil, *In* Cornil y Babés, *Las bacterias*, 1886.

(6) Mauricio Denucé, *Anatomia patológica de la erisipela*. Tesis de Bordeaux, 1885.

Los cocos son esféricos, muy pequeños, miden por término medio 0'3 μ de diámetro; se les encuentra á menudo reunidos de dos en dos; pero con mayor frecuencia formando cadenitas de un número variable de elementos. Raramente se encuentran en el líquido de las flíctenas, ó en la serosidad que exsudan las placas de erisipela á causa de una picadura. Se les observa, por el contrario, fácilmente en los cortes de piel enferma coloridas por el violeta de metilo, descoloridas por el método de Gram y teñidas en un baño de eosina. Los micrococos que permanecen morados, se distinguen perfectamente de los elementos de color de rosa. Ocupan casi exclusivamente los vasos linfáticos y los espacios interfasciculares del tejido conjuntivo (fig. 98).

Fehleisen obtuvo cultivos sumergiendo en gelatina viscosa un pedacito de piel erisipelatosa. La jalea al solidificarse engloba el tejido. Manteniendo el tubo á unos 20°, se ve al cabo de pocos días desarrollarse alrededor numerosas colonias puntiformes. Es más fácil y también más seguro inocular en estría, tubos de gelatina ó de gelosa, con el líquido obtenido por picadura de una placa de erisipela cerca de su borde. Inútil es decir que el lugar debe desinfectarse cuidadosamente de antemano por lavado al sublimado, si se quiere evitar la contaminación por una ú otra de las numerosas especies de bacterias que pueden encontrarse en estado normal, en la piel del hombre.

El desarrollo es el mismo sobre gelatina que sobre gelosa; la gelatina no se liquida. Se forman desde el tercer día, á lo largo de la estría, colonias blanquecinas que se extienden y se reunen de modo que forman una faja media del mismo color, con bordes recortados en forma de lóbulos que le han hecho comparar á la capa de ciertos helechos. La especie parece crecer mejor sobre suero, en donde da un cultivo más vasto, amarillo blanquecino, con bordes más recortados. Parece que no se desarrolla sobre patata; según Gaffky (1), se produce, no obstante, como en el *micrococcus pyogenes*, una multiplicación

(1) Gaffky, *Die Aetiologie der Abdominaltyphus (Mitth. aus. d. kais. Gesundh.*, II, 1884).

abundante de cocos en la capa superficial del substratum, de lo cual se puede uno asegurar, raspando ligeramente la superficie y observando el producto recogido al microscopio. En el caldo la vegetación es muy rápida á 30°-35°; en él se observan cadenas mucho más largas que las encontradas en la piel enferma.

Los caracteres de forma y de cultivo, apenas permiten separar con toda certeza el *micrococcus* encontrado en la erisipela del *micrococcus pyogenes*. La única diferencia, según Rosenbach (1), es que los cultivos sobre gelatina ó gelosa de este último, tienen los bordes más recortados; comparando el cultivo del *micrococcus Fehleisen* á una hoja de helecho, relaciona el del *micrococcus pyogenes* con una hoja de acacia. Estos caracteres son muy difíciles de apreciar, tanto más cuanto que están lejos de ofrecer una constancia absoluta.

Los diversos cultivos son igualmente virulentos; y la virulencia persiste en el mismo grado después de un gran número de generaciones sucesivas; todavía no se ha observado atenuación. Inoculando un conejo en la oreja con una mínima fracción de cultivo, se observa, al cabo de uno ó dos días, un tinte rojizo que se extiende progresivamente sobre todo el pabellón del órgano y gana hasta las partes vecinas; hay al mismo tiempo elevación de temperatura local. Fehleisen tentó de inocularlo en el hombre y obtuvo resultados positivos. Basándose en observaciones que demostraban la acción favorable de una erisipela accidental en la marcha de ciertos tumores malignos, practicó, con un fin terapéutico, siete inoculaciones en los enfermos atacados de cáncer del seno ó de lupus extendido de la cara. Obtuvo seis veces el desarrollo de una erisipela, pero ningún resultado terapéutico feliz. El tiempo de la incubación de la enfermedad en el hombre es, según los experimentos, de 15 á 61 días; individuos que, poco tiempo antes de la inoculación habían tenido una erisipela, se han mostrado refractarios.

(1) Rosenbach, *Microorganismen bei den Wundinfectionskrankheiten des Menschen*. Wiesbaden, 1884.

Los experimentos sobre animales dejan ver, no obstante, diferencias entre el *micrococcus de la erisipela* y el *micrococcus pyogenes*. Las inoculaciones del primero son generalmente bastante benignas; todo se reduce á una ligera inflamación con rubicundez y débil elevación de temperatura. El segundo, al contrario, determina trastornos más importantes, hinchazones á veces considerables, la producción de flemones y á menudo una muerte bastante rápida. Inyecciones intravenosas en crecidas dosis de cultivos del primero, no causan ningún perjuicio. En fin, como último carácter, el *micrococcus erysipelatis* no se observa en los cortes sino en los vasos linfáticos, mientras que el *micrococcus pyogenes* se observa en la linfa, en la sangre y hasta invade los tejidos. No obstante, según Bumm, (1) este último podría determinar en el conejo una erisipela completamente típica. La cuestión, como se ve, está lejos de ser resuelta y exige todavía nuevos estudios.

El contagio de la erisipela se verifica habitualmente por el aire. Eiselsberg (2) anunció haber reconocido el *micrococcus* de Fehleisen en el aire de las salas de hospital. Exponiendo placas de gelatina en las salas, ha podido encontrar dos veces la especie en cuestión; placas colocadas á poca distancia de un erisipelatoso le han ofrecido, además, otras colonias de esta misma bacteria, que se han desarrollado alrededor de pequeños fragmentos de epidermis depositados por el aire (3).

MICROCOCCUS DEL CLAVO DE BISKRA Duclaux. —Duclaux (4) lo obtuvo en cultivos de la sangre de un enfermo afectado de ese mal, tan conocido en Africa y Asia con el nombre de clavo de Biskra, clavo de Gafsa, botón del Nilo, botón de Alepo, etc. La afección empieza por una serie de pequeños botones confluentes, que pueden cubrir una superficie ancha como la mano. La piel inflamada se

(1) Bumm, *Die puerperale Wundinfestion (Centralblatt für Bacteriologie*, 1887 II, p. 343).

(2) Eiselsberg, *Nachweiss von Erysipelkokken in der Luft chirurgischer Krankenzimmer (Langenbeck's Archiv*. XXXV, 1887, p. 1).

(3) Para más detalles véase: Vautrin, art. *Erisipela* en el *Diccionario enciclopédico de ciencias médicas*.

(4) Duclaux, *Anales de dermatología y de sifiligrafía*, 25 Julio 1884 y *Archivos de fisiología*, 1884, p. 106.

ulcera; la ulceración que tiene á menudo bordes acantilados como un chancro, se cubre con una costra parda. La enfermedad dura en general mucho tiempo, los más dichosos se curan en seis meses, otros sólo después de uno ó dos años. La cura se hace espontáneamente y deja una profunda cicatriz. La enfermedad, reconocida desde hace mucho tiempo por muy contagiosa, es por decirlo así endémica en muchos puntos.

Los micrococos miden de o'5 μ á 1 μ de diámetro. Se les encuentra aislados, reunidos por pares ó con más frecuencia en gran número, y muestran una movilidad bien determinada. Se cultivan bien en todos los medios.

Duclaux los cultivó en caldo de vaca, donde vegetan rápidamente á la temperatura de 35°. Chantemesse (1) ha dado recientemente detalles completos respecto de los cultivos en medios sólidos.

La gelatina se liquida muy aprisa; se encuentran en la superficie del líquido copos amarillo-anaranjados.

Sobre gelosa se obtienen manchas salientes de color blanco mate, que al cabo de cinco ó seis días se convierte en amarillo anaranjado brillante.

La especie crece muy aprisa sobre patata; el cultivo se colorea desde el primer día.

Esos caracteres morfológicos son muy parecidos á los del *micrococcus pyogenes aureus;* existen, sin embargo, diferencias de cultivo suficientemente apreciables para permitir distinguirles. El *micrococcus de Duclaux* liquida la gelatina con más lentitud y su cultivo sobre patata se colorea al cabo de veinticuatro horas, mientras que el del *micrococcus pyogenes aureus* no se colorea sino después de cuatro ó cinco días. Las inoculaciones experimentales resuelven fácilmente todas las dudas; el *micrococcus del clavo de Biskra* reproduce en efecto constantemente lesiones que se parecen mucho al mal primitivo.

Inoculaciones de cultivos, hechas en conejos, determinan grandes salidas de clavos y fenómenos de gangrena de la piel, á menudo hasta complicaciones metastáticas que interesan principalmente el corazón y la serosa, acarreando rápidamente la muerte.

Las cobayas son mucho menos sensibles; las inyecciones subcutáneas no producen en ellas mas que pequeños abcesos que pronto se curan.

En dos casos de inoculación de cultivos en el hombre, Chantemesse obtuvo lesiones parecidas al mal indígena, pero de marcha más rápida.

Duclaux ha demostrado que los cultivos pierden su virulencia con la edad. Un cultivo de tres ó cuatro días está en la plenitud de la virulencia; en uno de diez días es ya mucho menor. Un cultivo de dos meses es completamente inofensivo, aun en fuertes dosis. Pero, hecho especial é interesantísimo, si se inocula caldo fresco con uno de esos cultivos inertes, pero no obstante todavía vivo, el cultivo que se obtiene, recupera en algunos días la virulencia primitiva.

Según Poncet (1), varias especies de bacterias son capaces de producir el mal en cuestión. En cortes de un botón de Gafsa, coloreados por el violeta de metilo, describe al lado de *micrococcus* de o'25 μ, bacilos cuya longitud varía de 1 μ á 8 μ. Los cultivos nunca dan bacilos, no dan más que micrococos.

MICROCOCCUS PNEUMONIÆ Friedländer.— La opinión ya antigua (2) que incluye la pneumonia fibrinosa entre las enfermedades infecciosas, recibió una brillante confirmación con el descubrimiento, por Friedländer (3), de esta especie y de sus propiedades. Para este autor, este *micrococcus pneumococcus*, como él le designa, es la causa más frecuente de las pneumonias. Otros le consideran como raro, sino excepcional; Weichselbaum (4), en 100 casos sólo lo ha observado 9 veces, y 91 veces la especie siguiente, *micrococcus Pasteuri*. Son cocos ovales, que ciertos autores describen como palitos cortos y gruesos, desig-

(1) Chantemesse, *Nota sobre el botón del Nilo (Anales del Instituto Pasteur*, 1887, p. 47).

(1) Poncet, *Nota sobre el clavo de Gafsa (Túnez) (Anales del Instituto Pasteur*, 1887, n.° 11, p. 518).

(2) Bernheim, *Lecciones de clínica médica*, 1877.

(3) Friedländer, *Ueber die Schizomyceten bei der acuter fibrinösen Pneumonie (Virchov's Archiv*, 87, 1882).

(4) Weichselbaum, *Ueber die Aetio'ogie der acuten Lungen und Rippenfellentzündungen (Wiener medicinische Jahrbuch*, 1886, p. 483).

nándolos entonces con el nombre de *bacillus pneumoniæ*. Miden por término medio 1 μ de largo y poco menos de ancho; están á menudo reunidos por pares en diplococos, rara vez en mayor número, formando cortas cadenitas; parecen no presentar movimiento alguno. Tales como se encuentran en los esputos sanguíneos característicos, presentan como particularidad notabilísima una especie de cápsula gelatinosa, transparente, que les rodea como de una aureola y que toma difícilmente el color; de suerte que, en preparaciones coloreadas, según los procedimientos habituales, los cocos están muy coloreados, así como la substancia fundamental; las cápsulas quedan incoloras (fig. 30). Esta densa vaina de jalea está probablemente formada por la capa externa gelificada de la membrana que alcanza aquí proporciones relativamente considerables. Resiste á los ácidos, pero se disuelve rápidamente en los álcalis. Por lo demás, está muy lejos de tener una constancia absoluta; como se verá falta siempre en los cultivos. Los cocos aislados están bordeados de una zona clara, que les rodea como de un ancho anillo muy regular (fig. 99). Los dos elementos que forman los diplococos parecen, á primera vista, abultamientos medios que estén incluídos en una misma cápsula homogénea é indivisa. Con un poco de atención y mejores objetivos, se percibe fácilmente que existe, entre los dos cocos, un fino trazo de substancia coloreada, que deslinda perfectamente la parte de la cápsula que pertenece á cada uno de ellos (fig. 30).

La figura 30 representa, de izquierda á derecha, diferentes estados de la división de los elementos y de su cápsula. Cada uno de los cocos del par se alarga y se convierte en un óvalo cuyo extremo pequeño mira al centro. En un estado más adelantado, se ve destacarse, en los lados de los elementos que se miran, un coco menor que el primero y que casi no parece más que un brote. Durante este tiempo la división de las cápsulas se acentúa; muy pronto cada una de las dos parejas nuevamente formadas, tienen su vaina gelatinosa distinta. Los elementos jóvenes han aumentado y cuando casi han alcanzado las dimensiones del individuo madre, puede observarse entre ellos la escisión de la cápsula que antes hemos indicado.

Friedländer (1) recomienda el procedimiento siguiente para la investigación del *micrococcus pneumoniæ* en los esputos; las láminas preparadas, como se sabe, se empapan algunos minutos en el agua á la cual se adiciona un 1 % de ácido acético, secados al aire y luego sumergidos algunos segundos en un baño de agua de anilina, coloreada con violeta de genciana y lavadas en el agua.

Según Ribbert (2), se obtiene la coloración de las cápsulas empapando las láminas preparadas en la mezcla siguiente saturada en caliente con morado de dalia:

Agua destilada. . . .	100
Alcohol.	50
Acido acético.. . . .	12,50

La coloración es muy rápida, por eso la immersión ha de ser de corta duración. Se lava enseguida al agua. Los cocos tienen un color violeta azul obscuro y las cápsulas un azul claro.

Para estudiarlos en cortes de pulmón, Friedländer (3) da color á los cortes en un baño así formado.

Solución concentrada de violeta de genciana.	50
Agua.	100
Acido acético..	10

En él deja los cortes durante un día y los lava con agua á la que se ha adicionado un 1 % de ácido acético. Después de la deshidratacióñpor el alcohol, las preparaciones se aclarancon la esencia de cedro y se espesan en el bálsamo. Las cápsulas quedan á menudo coloridas, pero de un matiz mucho más claro que los *micrococcus* que encierran.

Esta especie se cultiva en todos los medios y crece bien á partir de 15°.

En cultivos sobre placas de gelatina se observan, al cabo de dos ó tres días, en el interior de la jalea, pequeñas colonias redondas,

---

(1) Friedländer, *Ueber Pneumonie-Micrococcen (Fortschritt der Medicin*, II, 1885, p. 92).

(2) Ribbert, *Zur Färbung der Pneumonickokkea (Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1885, n.° 9, p. 136).

(3) Friedländer, *Microscopische Technik*, 1885, p. 57).

granulosas, con bordes limpios, de coloración amarilla obscura á la luz transmitida; las que alcanzan la superficie, se desarrollan en ella dando pequeños mamelones hemisféricos blanquecinos. La gelatina no se liquida.

Inoculada en picadura en un tubo de gelatina, se ve después de uno ó dos días, formarse en la superficie una pequeña colonia blanca que aumenta y da una masa hemisférica de un color blanco gris brillante, de aspecto de porcelana. A lo largo del canal de la picadura, se observa una masa de pequeñas colonias esféricas blancas. Este es el aspecto del cultivo denominado *en clavo*; el cultivo combado de la superficie forma la cabeza del clavo; el del canal, el tallo (fig. 79).

En estría, sobre gelatina ó sobre gelosa, se produce una banda opaca; sobre suero, una delgada capa mucosa parda.

El *micrococcus pneumoniæ* se desarrolla muy bien sobre patata; en ella da un espeso cultivo, amarillento, húmedo, un poco viscoso, en el cual se forman, principalmente en estufa, burbujas de gas.

Los elementos tomados en los cultivos tienen las mismas dimensiones que los de los esputos; como ellos se colorean fácilmente con los colores de la anilina y se decoloran por el método de Gram. Como diferencia importante, no presentan cápsulas. Friedländer, en una primer memoria (1), aconseja para hacer aparecer las cápsulas, diluir porciones de cultivo en caldo que se mantiene por algún tiempo cerca de 37°; los resultados no son constantes. Nunca se ha observado formación de esporos.

Friedländer ha experimentado la acción de cultivos sobre los animales. Ha obtenido resultados positivos constantes en los ratones, por la inyección de caldos de cultivos ó de productos de cultivo diluídos en el agua, en el pulmón, por medio de una jeringa de Pravaz. Treintidós ratones inoculados han muerto todos, después de haber presentado síntomas pulmonares bien evidentes. En la autopsia los pulmones se encontraron muy hepatizados, y la cavidad pleural encerraba un líquido turbio. Las cobayas resisten más, la mitad al menos sobreviven; el perro es menos sensible todavía, de cinco sólo sucumbió uno. Sin embargo la pneumonia franca es frecuente en este animal y presenta siempre un carácter de gravedad. Los conejos se han mostrado siempre refractarios.

Sometiendo ratones á inhalaciones de agua cargada de productos de cultivo, practicadas por medio de pulverizaciones prolongadas, ese mismo experimentador obtuvo cierto número de resultados positivos, parecidos á los precedentes.

Los *micrococcus* que han pasado así por el organismo animal, se muestran siempre rodeados de una cápsula, al revés de los cultivos.

Esta especie patógena no se encuentra solamente en los pulmones y la espectoración de los pneumónicos. Gram (1) dice haberla obtenido de la sangre de enfermos que lo han sido por cultivos absolutamente característicos. Babès (2), en cuarenta casos de pneumonia procedente de una pequeña epidemia bien localizada, ha hecho constar la presencia de esos *micrococcus* en la exsudación de la pleura, del pericardio, de las meninges, del peritoneo, en el riñón. No se ha hecho todavía la distinción de esa especie con la que sigue.

En el polvo del pavimento de una sala en que había pneumónicos, Emmerich (3) aisló cultivos de esta especie; y pudo obtener resultados ciertos en los ratones á causa de inoculaciones de estos cultivos. Uffelman (4) dice haber obtenido cultivos característicos del aire de una bodega; mas no da en su apoyo prueba experimental alguna.

MICROCOCCUS PASTEURI Sternberg.—Pasteur, Roux y Chamberland describieron en 1881 (5) un micrococo encontrado en la san-

(1) Friedländer, *Die Micrococcen der Pneumonie (Fortschritte der Medicin*, 1883, p. 715).

(1) Gram, *Ueber die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt-und Trockenpräparate (Fortschritte der Medicin*, 1884).

(2) *In* Cornil et Babès, *Las Bacterias*, 2.ª edición, p. 407.

(3) Emmerich, *Pneumoniccoccen in der Zwischen-Deckenfüllung als Ursache einer Pneumonieepidemie (Fortschritse der Medicin*, 1884).

(4) Uffelmann, *Friedländer's Pneumoniebacillen, gefunden in der Luft eines Kellerraumes (Berliner klinische Wochenschrift*, 1887, n.º 39, p. 726).

(5) Pasteur, *Boletin de la Academia de medicina*, Enero 1881.

gre de conejos á los cuales habían inyectado saliva de un niño muerto de rabia. El efecto producido fué una septicemia rápidamente mortal; la sangre de todos los órganos encerraba bacterias redondas en gran número. Esos experimentadores obtuvieron iguales resultados inyectando á conejos, espectoración de bronquio-pneumónicos. Uno de los caracteres más aparentes que ha sido desde entonces señalado, es la presencia deuna cápsula que rodea la bacteria *como de una aureola.*

Poco tiempo después, Sternberg (1) sin conocer las investigaciones de Pasteur sobre este punto, llegaba á conclusiones idénticas y describía alguna de las particulares del cultivo de la especie, á la cual atribuyó más tarde el nombre que debe conservársele, visto su derecho de prioridad, de *micrococcus Pasteuri.* Ese observador admitía entonces su identidad con el *pneumococcus* de Friedländer, la especie precedente, de la cual se distingue, según opinión general, por caracteres muy importantes (2).

Hasta entonces esta especie parecía no ocasionar mas que una enfermedad, puramente experimental, no teniendo analogía con ninguno de los males conocidos en el hombre ó en los animales. Talamon (3) le había, no obstante, señalado en los esputos de los pneumónicos, en la excitación del pulmón, obtenidos por punción durante la vida ó tomada en la autopsia, y una vez en la sangre de un enfermo poco tiempo antes de la muerte. Obtuvo de ellas cultivos en caldos y determinó en conejos, por inyección de líquido de cultivo, verdaderas pneumonias, acompañadas á menudo de pleuresia y pericarditis. Los animales mueren generalmente del cuarto al quinto día, después de haber alcanzado elevadas temperaturas, hasta 41°'8; algunos de ellos han resistido. Talamon no menciona la presencia de la cápsula, pero insiste en la forma oval con el extremo pequeño agudo, de los cocos que él supone lanceolados, semejantes á granos de trigo.

Esos son principalmente los estudios de A. Fränkel (1) que han contribuído á poner en evidencia su importante papel patológico. El carácter que primero le llamó la atención fué su acción sobre el organismo del conejo, de donde el nombre que le dió, *micrococo de la septicemia salival;* sólo más tarde llegó á considerarle como la causa de la pneumonia en el hombre. Para muchos observadores es, en efecto, el agente más común de la pneumonia infecciosa: hemos visto á propósito de la especie anterior, que Weichselbaum en 100 casos la observó 91 veces y sólo 9 el *pneumococcus* de Friedländer. Semejante á su congénere, no siempre se localiza en los pulmones, sino que penetra en la circulación general y provoca inflamaciones metastáticas, que afectan principalmente las grandes serosas, de donde proceden estas pleuresias, pericarditis, meningitis consecutivas á la pneumonia, que pueden declararse, sin que la bacteria haya ejercido de antemano su acción sobre el pulmón (2). Según las investigaciones de Foá y Bordoni (3), esta causa sería, á exclusión de la precedente, la causa constante y exclusiva de la meningitis cerebro-espinal.

Después se ha reconocido que el *micrococcus* existía en la boca en estado normal. Netter (4) lo aisló empleando el método primitivo de Pasteur, la inyección de saliva en la yugular de conejos. Según él, no existe siempre en la boca, pero puede desaparecer en un momento dado, para reaparecer más tarde. Se le encuentra durante un período muy largo en la saliva de los pneumónicos crónicos;

---

(1) Sternberg, *American Journal of medical science,* Abril 1881.

(2) Id., *The Pneumoniacoccus of Friedländer (Micrococcus Pasteuri) (American Journal of medical science,* Julio 1885.

(3) Talamon, *Sociedad anatómica,* 1883, y *Sociedad de biología,* 21 Mayo 1884.

(1) Fränkel, *Die genuine Pneumonie (Congreso de medicina interna de Berlin,* 1884).—*Bacteriologische Mittheilung (Deutsche med. Wochenschrift,* 1885, y *Zeitschrift für klinische Medicin,* X, p. 401).—*Weitere Beiträge zur Lehre von den Micrococcen der genuinen fibrinösen Pneumonie (Zeitschrift für klinische Medicin,* X, Heft 5-6; XI, Heft, 5-6).

(2) Netter, *De la meningitis debida al pneumococo con ó sin pneumonia (Archivos generales de medicina,* Abril y Julio 1887.

(3) Foà y Bordoni, *Semana médica,* 1887, pág. 431.

(4) Netter, *De la endocarditis vegetante ulcerosa de origen pneumónico (Archivos de fisiología,* 15 Agosto 1886, VIII, pág. 106).—*De la presencia del microbio de la pneumonia en la boca de individuos sanos (Boletín medical* 1.° de Mayo de 1887).—*Del microbio de la neumonia en la saliva (Sociedad de biología,* 1888).

pero es inactivo durante las dos semanas que siguen á la defervescencia; luego recupera su virulencia, que entonces guarda mucho tiempo. Vignal (1), y probablemente Biondi (2) le han aislado directamente de la saliva, por medio de cultivos sobre placas.

Talamon y Fränkel han sido los primeros en señalar la forma particular de los elementos de esta especie. Son cocos (fig. 100) ovales alargados, en forma de grano de trigo ó de cebada (Talamon), ó en forma de lanceta (Fränkel); están rara vez aislados, muy amenudo en diplococos ó en cortas cadenas de cuatro á seis elementos y siempre inmóviles. En los individuos asociados en diplococos, las puntas se miran vueltas ambas hacia el centro de la pareja. La forma y dimensiones de los cocos son muy variables; los hay esféricos, midiendo 0'5 μ de diámetro y otros ovales con una longitud de un metro á 1'5 μ por 1 μ de ancho. En algunos cultivos de longitud puede ser mucho mayor que la anchura; entonces se tienen cortos bastoncillos. De ahí viene el que muchos autores describan esta especie, como perteneciente al género *bacillus*. No se han establecido todavía razones bastante seguras para admitir sin restricción este modo de ver.

Los cocos están rodeados, como en la especie precedente, de una espesa zona gelatinosa, de una especie de cápsula, y son muy evidentes en las preparaciones de esputos pneumónicos ó de la exsudación de meningitis, tratados como se ha indicado por el *micrococcus pneumoniæ*. Esta cápsula desaparece en los cultivos, y vuelve á aparecer en animales inoculados con ellos. Además, los elementos de los cultivos son regularmente esféricos y están dispuestos en cadenas más largas.

Los cultivos se parecen mucho á los del *micrococcus pneumoniæ;* sólo se desarrollan bien á partir de 24° y no muy bien á 20°, según Fränkel; el optimum de temperatura es 35°, el desarrollo se detiene á 42°. La presencia de oxígeno, aunque favorable, no es de necesidad absoluta; es un anerobio facultativo que puede privarse del aire, á lo menos entre ciertos límites bastante apartados.

En cultivos sobre placas, con gelatina en un 15 por 100 que se mantiene sólida á 24°, al cabo de treintiséis horas se observan en la jalea pequeños puntos pardos, de los cuales los superiores llegan á la superficie, donde se extienden en pequeñas manchas redondas, blanco grisaceas, que crecen lentamente y nunca alcanzan una longitud mediana. La gelatina no se liquida.

En picadura en un tubo de gelatina, se forma un cultivo *en clavo,* como para la especie precedente, pero menos fuerte; después de algunas generaciones, la forma de clavo desaparece y el desarrollo es menos abundante.

Sobre gelosa á 35°, se obtienen gotitas brillantes, hialinas, difíciles de percibir, que parecen, como dijo Fränkel, gotas de rocío. Sobre suero, una delgada capa mucosa, transparente.

Esta especie se cultiva bien con el caldo en la estufa; el líquido apenas se enturbia, se observa á lo sumo un ligerísimo velo en los cultivos viejos.

Los cocos se colorean fácilmente por los procedimientos ordinarios; la cápsula queda casi siempre incolora. Quedan coloreados después de tratados por la solución de Gram, lo que los distingue del *micrococcus pneumoniæ*.

Inoculado en conejos, ratones ó cobayas, el producto de cultivos recientes, les hace morir en poco tiempo, generalmente en veinticuatro á cuarentiocho horas; las cobayas á menudo resisten. Bastan algunas gotas de caldo del primer cultivo, inyectadas bajo la piel. Se produce en tal caso una verdadera septicemia; se encuentran numerosos *micrococcus* capsulados en la sangre y en todos los órganos; y especialmente en el bazo, por ser duro, pueden hacerle doblar de volumen. Parece que no hay preferencia alguna por las manifestaciones pulmonares; nunca se observa reacción en el punto de inoculación. No obstante, Talamon ha obtenido verdaderas pneumonias, inyectando directamente en

(1) Vignal, *Investigaciones sobre la acción de los microorganismos de la boca en algunas substancias alimenticias* (*Archivos de fisiologia*, 1887, pág. 290 .

(2) Biondi, *Die pathogenen Mikroorganismen des Speichels* (*Zeitschrift für Hygiene*, II, 2.ª p., p. 194).

pulmones de conejos, sangre que contenía *micrococcus* de estos.

Los cultivos son más delicados que los del *pneumococcus* de Frienländer; los cultivos sobre gelosa y gelatina mueren al cabo de cuatro ó cinco días. Una temperatura un poco elevada debilita muy pronto su virulencia; son completamente inofensivos, cuando se han mantenido á 42° durante veinticuatro horas. Los segundos cultivos son ya mucho menos virulentos que los primeros. Según Foà y Bordoni, la inoculación de cultivos atenuados sólo produce una inflamación localizada, una especie de pseudo-tuberculosis después de la inspección en el pulmón, y confiere á los carneros la inmunidad para los cultivos virulentos.

MICROCOCCUS INTRACELLULARIS MENINGITIDIS Weichselbaum.—Weichselbaum (1) encontró esta especie en seis casos de meningitis cerebro-espinal. Son cocos redondos dispuestos á menudo en diplococos, en los que algunos individuos parecen mucho mayores que los demás. En los cortes de cerebro y de médula, no se encuentran sino en el interior de las células.

Los cultivos son delicados; sólo se desarrollan en estufa á 35°, y alcanzan su máximo en cuarentiocho horas. Casi no se observa nada en caldo y nada absolutamente sobre patata. En cultivos sobre placas de gelosa, se obtienen colonias redondas, algo irregulares, finamente granulosas, con bordes dentados. coloreados de amarillo obscuro.

Las formas de cultivo son idénticas á las observadas en los tejidos ó la exsudación. Todos los cocos se colorean por la solución alcalina de azul de metileno de Löffler y se descoloran cuando se las trata por el método de Gram.

Los cultivos pierden muy aprisa su virulencia, que es muy débil al cabo de tres días y ha desaparecido enteramente después de seis. Los ratones son muy sensibles á las inoculaciones. Las inyecciones en la cavidad pleural dan una pleuresia, en la exsudación de la cual se encuentran diplococos formando grandes masas; existen núcleos de hepatización en los pulmones; la muerte llega de las treintiséis á las cuarentiocho horas. Las inyecciones subcutáneas no producen efecto. Tres perros, en los cuales se inoculó bajo la dura madre, sucumbieron á una paquimeningitis y encefalitis agudas y, sin embargo, uno sólo tenía cocos en la exsudación.

MICROCOCCUS TETRAGENUS Gaffky.—Le señaló Koch, que lo encontró en el contenido de una caverna pulmonar. Gaffky (1) es quien le dió su nombre y quien ha suministrado los primeros detalles relativos á su morfología.

Es frecuente en los esputos de los tísicos, acompañando á menudo el *bacilo de la tuberculosis* (fig. 101), ó en el contenido purulento de las cavernas; Biondi (2) sólo lo encontró tres veces en cincuenta personas examinadas á ese efecto, sin que presentasen indicios de afección pulmonar los individuos que lo llevaban. Parece que se puede encontrar, aunque con poca frecuencia, en la saliva en estado normal.

Los elementos son cocos esféricos de 1 μ y más de diámetro, que, procedentes del organismo, se presentan generalmente reunidos de cuatro en cuatro, de ahí el nombre atribuído á la especie. El aspecto recuerda ligeramente el de las *sarcinas*, pero la división no se verifica según tres direcciones, como en estas últimas. Las tetradas al reunirse, nunca dan masas cúbicas, sino solamente tablitas de exiguo espesor. En los cultivos, los elementos están ordinariamente aislados ó reunidos en masas irregulares. Las tetradas, tomadas en el organismo y principalmente observadas en los cortes de pulmón ó de riñón (fig. 102), parecen rodeadas de una cubierta gelatinosa menos marcada que la de los pneumococos; esta especie de cápsula no existe en los cocos de los cultivos. Esos *micrococcus* toman un tinte subido con los colores de anilina y no quedan descoloridos por

(1) Weichselbaum, *Ueber die Actiologie der akuten Meningitis cerebro-spinalis (Fortschritte der Medicin*, 1887, números 18, 19, p. 537, 583, 620, 626).

(1) Gaffky, *Ueber antiseptische Eigenschaften der in der Esmarch'schen Klinik als Verbandmittel benutzten Torfmulls (Langenbeck's Archiv*, 1883, XXVIII, p. 495).

(2) Biondi, *Die pathogenen Mikroorganismen der Speichels (Zeitscrift für Hygiene* II, 1887, p. 194).

el método de Gram; la cápsula á lo sumo se colorea débilmente, y en general no toma coloración alguna.

El *micrococcus tetragenus* se cultiva bien en todos los medios. Sólo crece con lentitud. Es una bacteria aerobia, pero que se contenta con pequeña cantidad de oxígeno, y quizás sea un anaerobio facultativo.

En cultivo sobre placas de gelatina da al cabo de dos días puntitos blancos en el interior de la jalea; esos llegan á la superficie y producen pequeñas colonias combadas, de un color blanco brillante, de aspecto de porcelana. Nunca liquida la gelatina.

En picadura en un tubo de gelatina, se forman en el canal de la picadura, colonias redondas, aisladas en la parte inferior, confluentes en la parte superior; en la superficie, un botón hemisférico (fig. 103), blanco lechoso, algo amarillento, ó un disco deprimido en el centro del mismo matiz.

Sobre gelosa ó suero se obtienen á lo largo de la estría colonias redondas, blancas, algo húmedas. Sobre patata lo que se obtiene es una capa mucosa, blanquecina, que se estira en largos filamentos.

Se desarrolla bien en caldo de carne, donde forma un depósito espeso, á menudo de algunos milimetros.

Los cultivos son virulentos para los ratones blancos y las cobayas; los ratones campesinos y domésticos, los conejos, los perros parecen poco sensibles ó refractarios. Los ratones blancos mueren á menudo en veinticuatro horas, después de una inoculación subcutánea de pequeñas cantidades de cultivo. La sangre encierra numerosas tetradas; se encuentran grandes masas de ellas en el riñón (fig. 102), el hígado, el bazo: los pulmones son hiperemiados, pero no presentan hepatización. Las cobayas mueren á los tres ó cinco días con síntomas menos marcados. Los cultivos, según parece, no sufren atenuación alguna con la edad; los cultivos de Biondi, al cabo de veinte semanas nada habían perdido de su virulencia. Cultivos reiterados con frecuencia, en el Instituto de Higiene de Berlín, tenían todavía, al cabo de cuatro años, toda su fuerza de infección.

MICROCOCCUS GONORRHEÆ Neisser. — Hallier (1) habia señalado en 1872 la presencia de *micrococcus* en el pus de la blenorragia, y reconoció que se les podía encontrar en el interior de los glóbulos de pus. Las primeras investigaciones precisas son de Neisser (2), que ha demostrado la constancia de esa especie en la blenorragia y la oftalmia blenorrágica. Las observaciones de Neisser han sido confirmadas por las de Weiss (3) que han añadido á las primeras, consideraciones clínicas interesantes. Loe trabajos más importantes respecto de este asunto son sin duda los de Bumm (4), que ha obtenido resultados muy superiores á los precedentes.

Este *micrococcus* no es sin embargo la única especie que se encuentra en el pus de la blenorragia; Zeissl (5) ha encontrado otros varios, de diverso aspecto; Bumm (6) aisló algunos que más adelante describiremos; recientemente, Giovannini (7) ha creido distinguir cinco especies, de las cuales únicamente dos existirían segun él en la uretra normal. Los caracteres de formas y dimensiones de esos *micrococcus* son muy parecidos; por eso no se puede esperar diferenciarlos más que por los cultivos. Dos caracteres parecen, sin embargo, hasta ahora, propios del *micrococcus gonorrheæ*: su presencia en el interior de las células y principalmente de los glóbulos de pus, y su decoloración constante por el método de Gram, señalada por Roux (8).

Los cocos tienen por término medio, un diámetro de 0'5 μ, el cual parece disminuir algo en los casos crónicos. Están comúnmente reunidos por parejas, en diplococos,

---

(1) Hallier, *Zeitschrift für Parasitenkunde*, I, p. 179.
(2) Neisser, *Ueber ein der Gonorrheæ eigenthümliche Micrococcenform (Centralbl. für der medic. Wissenschaften*, 1879).
(3) Weiss, *El microbio del pus blenorrágico*, tesis de Nancy, 1880.
(4) Bumm, *Der Mikroorganismus der gonorrheischen Schleimhaut-Erkrankungen*. Wiesbaden, 1885.
(5) Zeissl, *Ueber den Diplococcus Neisser's (Viertel-jahresschrift für Dermatologie*, 1887).
(6) Bumm, *Beitrag zur Kenntniss der Gonorrhoe der weiblichen Genitalien (Archiv. für Gynäkologie*, XXIII, 1884, p. 327).
(7) Giovannini, *Die Mikroparasiten des männlichen Harnröhrentrippers (Centralblatt für die med. Wissenschaften*, 1866, p. 365).
(8) G. Roux. *Procedimiento técnico de diagnosis de los gonococos (Trabajo presentado á la Academia de ciencias*, 8 Noviembre, 1886).

asociados á menudo en pequeñas masas. Su forma es oval; aparece ligerameute asimétrica con un pronunciado abultamiento (figura 104). Según Bumm, la faz de los cocos vuelta hacia el centro de la pareja está levemente vaciada (fig. 104, *b*); el elemento toma entonces un aspecto reniforme, el de una habichuela. Tienen un movimiento bien evidente pero poco pronunciado. Se les colorea perfectamente con todos los colores de anilina usuales; tratados por el método de de Gram, siempre se decoloran.

El número de individuos de *micrococcus gonorrheæ* que se encuentran en el pus blenorrágico, y las relaciones que guardan con los elementos celulares que este líquido contiene en suspensión, varían entre límites muy diferentes, según la edad y la naturaleza del fluído. Legrain (1), á consecuencia de un trabajo de esta índole, dió interesantes pormenores sobre el particular.

Al principio, se encuentran en el pus muchas células epiteliales entre sus glóbulos; dos ó tres por ciento de estos últimos sólo contienen gonococos. Desde el final del segundo día, la proporción de los glóbulos de pus que contienen bacterias aumenta un poco; algunos encierran un gran número de ellas, de diez á ochenta generalmente, hasta ciento veinte según Bouchard (fig. 105). El período agudo se acentúa; las células epiteliales desaparecen casi completamente. El número de glóbulos de pus invadidos aumenta mucho. En este momento, el parásito no se reproduce más en el epitelio, sino en el espesor de la mucosa; y por eso es tan difícil de obtener. En el período subagudo, los elementos epiteliales aumentan en número, pero raramente presentan *micrococcus*, y son por el contrario, numerosos los glóbulos de pus invadidos. En fin, cuando la evacuación pasa á ser crónica, la proporción de los glóbulos de pus se reduce mucho; es con frecuencia difícil encontrar uno solo en medio de los elementos epiteliales. Pero casi todas las células epiteliales son atacadas por la bacteria; algunas pueden contener un número considerable de ellas; el líquido encierra muchas; muy pocas se encuentran en los glóbulos de pus. En cierto caso de recaída, al cabo de cinco meses, los glóbulos de pus habían vuelto á aparecer en gran cantidad en la evacuación; ninguno de ellos contenía gonococo, al contrario de las células epiteliales, que estaban sobrecargadas de ellos. La inflamación pierde su profundidad para convertirse en superficial y no se produce más con los mismos caracteres que en estado agudo. Esos resultados son de gran importancia terapéutica. En efecto, confirman una regla de conducta recomendable: emplear un antiséptico enérgico al principio, ó solamente después del período agudo, cuando el parásito, vuelto á la superficie, es fácil de obtener.

Es recomendable, para conservar todo lo posible en las preparaciones las relaciones que existen entre los elementos del pus, no frotar dos láminas una con otra para extender la capa por colorear. Conviene esparcir el pus por encima de la lámina, y luego dejarla secar; así se evita romper los glóbulos y dispersar las bacterias por el líquido. Operando con tales precauciones no se tienen, durante el período definitivo, sino muy pocos *micrococcus* en el líquido, y aun son quizás bacterias accesorias que acompañan á menudo esta especie; los *micrococcus gonorrheæ* están localizados en el interior de las células.

Bumm es el primero que ha logrado cultivar esa especie sobre suero de sangre humana, obtenido como hemos indicado anteriormente y mantenido á la temperatura de 33° á 37°. Según él, el cultivo aparece de las dieciocho á las veinticuatro horas; el crecimiento es lento y se detiene al cabo de algunos días. Después del desarrollo completo, forma un islote con bordes escarpados, con la superficie húmeda y brillante, que se parece á una tenue capa de barniz.

Bockart (1) y Kreis (2) han obtenido de esa especie cultivos sobre gelatina y gelosa. Sus

---

(1) Legrain, *Investigaciones sobre las relaciones que tiene el gonococo con los elementos del pus blenorrágico* (*Archivos de fisiologia*, 1887, n.° 6).

(1) Bockart, *Beiträje zur Kenntniss der Gonococcus* (*Monatshefte für prakt. Dermatologie*, V, 1886, n.° 10).

(2) Kreis, *Beiträge zur Kenntniss der Gonococcus* (*Wiener med. Wochenschrift*, 1885, n.° 30).

resultados han sido luego confirmados; sin embargo, los cultivos parecen desarrollarse con mayor facilidad sobre gelosa.

Es recomendable ante todo, para obtener cultivos puros, tomar el pus en los primeros días; más tarde se presentan invadidos por las bacterias accesorias de que hemos hablado. Además, cuanto más nos aproximamos al principio de la evacuación, mayor vitalidad muestran los cultivos.

Inoculando en estría un tubo de gelosa con una pequeña cantidad de pus y manteniéndole á 35°, se vé á las veinte horas la gotita de pus volverse quebradiza; los glóbulos de pus y las células epiteliales sufren una disgregación; los primeros contienen casi todos los *micrococcus* que ya han pululado. Muy pronto se convierte en un magma granujiento sembrado de micrococos. Se forma alrededor, á las treinta horas, una pequeña aureola, clara, transparente, que se ensancha y alcanza de 3 á 4 milímetros al fin del tercer día. Al décimo día el cultivo mide cerca de 1 centímetro de largo, y tiene un aspecto que parece barnizado, luciente y más bien seco que húmedo. Al cabo de tres semanas alcanza 3 centimetros y deja ver en sus bordes pequeños mamelones transparentes; luego queda estacionario; se seca y se agrieta. Este cultivo no es viscoso, pero sí es granuloso y quebradizo. Su vitalidad disminuye con gran rapidez; y después del cuarto cultivo nada se obtiene.

Por inoculación en picadura en un tubo de gelatina, se observa al cabo de algunos días, manteniendo el cultivo á 22°, una ligera depresión en la superficie. Al décimo día, próximamente, se ha formado una cúpula de cerca 1 centímetro de altura, constituída antes bien por un reblandecimiento de la gelatina que por una verdadera liquefacción. Esos cultivos son todavía menos resistentes que los hechos sobre gelosa; rara vez se reproducen en tercera generación.

Cuando se pone en cultivo pus, de la segunda ó tercera semana, las colonias obtenidas son mucho más reducidas y con frecuencia incapaces de reproducirse en segundo cultivo. La vitalidad de la especie resiste muy poco las condiciones desfavorables. Exponiendo á una temperatura de 0° durante algunas horas tubos convenientemente sembrados, se ha impedido por completo el desarrollo de los cultivos. Pus del primer día conservado veinticuatro horas en un tubo de vacuna, ha quedado estéril. Según esos resultados, no podría pensarse, como lo hizo Lober (1), en obtener de los cultivos de gonococo, manchas de pus blenorrágico cuando han estado algún tiempo sobre ropa blanca. Por otra parte Aubert (2), en delicadas investigaciones, se ha visto obligado á rechazar las conclusiones de este último autor. Es verdaderamente sorprendente que una bacteria que goza de tan escasa vitalidad, ocasione una afección tan tenaz.

Los cultivos frescos son virulentos, pero pierden rápidamente su poder infeccioso. Bokai (3) afirma haber determinado una verdadera blenorragia en seis individuos de uretra sana. Bockart y Bumm han anunciado igualmente resultados positivos respecto del hombre y la mujer. Los animales de experimento se muestran generalmente refractarios, á causa de la inoculación en la uretra ó en la conjuntiva. Sin embargo, Legrain obtuvo en la cobaya una ligera inflamación de la conjuntiva, con secreción poco abundante que contenía algunos glóbulos de pus con gonococos en su interior.

Esta especie se encuentra en el pus de las afecciones blenorrágicas de la uretra, de la vejiga, de la vagina y del útero. Se encuentra igualmente en el pus de la oftalmia blenorrágica y de la oftalmia de los recién nacidos. Hallier señaló la presencia de *micrococcus* en la sangre de los individuos afectados de reumatismo blenorrágico; Petrone (4) y Kammerer (5) reconocieron gonococos en el pus de una artritis blenorrágica de la rodilla.

MICROCOCCUS LACTEUS FAVIFORMES Bumm.—

(1) Lober, *Contribuciones al estudio del gonococo (Boletin medical del Norte*, Junio, 1887).

(2) Aubert, *El gonococo en medicina legal (Lión medical*, 1888, n.° 8).

(3) Bolkai, *Ueber den Contagium der acuten Blennorrhoe (Allgemeine medic. Centralz*, 1880, n.° 74).

(4) Petrone, *Sulla natura dell' artrite blennorrhagica (Revista clinica*, 1883).

(5) Kammerer, *Ueber gonorrheischen Gelenkentzündung (Centralblatt für Chirurgie*, 1884, n.° 4).

Bumm (1) considera esta especie como frecuente en el *mucus* vaginal normal; más tarde la encontró también en el *mucus* uterino y los esputos.

Son diplococos á menudo aislados ó reunidos por pares en tetradas, que miden 2'2 μ á 2'5 μ de máxima longitud. Se cultiva fácilmente en todos los medios á la temperatura ordinaria, pero mejor cerca de 37°.

La gelatina en ellos no se liquida. Por inoculación en estría, ve formarse en ella, después de uno ó dos días, pequeños puntos blancos que reuniéndose luego forman placas de un color blanco de leche. Los cultivos resultan iguales sobre gelatina alcalina ó neutra. Se obtienen buenas colonias sobre patatas.

Los caracteres de los elementos de los cultivos son los mismos que los del organismo. Todos toman un tinte subido por medio de los colores de anilina, que no pierden por el método de Gram. En estado reciente, los cocos parecen esféricos, refringentes, teniendo un movimiento tembloroso. En preparaciones los diplococos ofrecen la forma asimétrica señalada ya en el *micrococcus gonorreheæ*, con el lado cóncavo más marcado; además, los elementos de un mismo par están más próximos que en esta última especie. Cuando se prepara en una gota de líquido una partícula de cultivo para el examen microscópico, los diplococos aislados se disponen sobre la lámina, uno contra otro, en una sola capa; el aspecto de la figura obtenida recuerda entonces la del panal con sus numerosos alvéolos. De esta última particularidad se ha sacado el nombre de la especie.

Los cultivos no tienen ninguna propiedad infecciosa. La especie no parece tener relación alguna con la cantidad ó la calidad de la secreción en que se la encuentra.

MICROCOCCUS SUBFLAVUS Bumm.—Es frecuente en el *mucus* vaginal y los loquios. Son diplococos de 2'2 μ á 2'6 μ de máximo diámetro, de aspecto muy parecido al *micrococcus gonorrheæ;* se mantienen coloridos después de tratados por la solución de Gram, y además se distinguen por los cultivos.

Sobre gelatina se forman en veinticuatro horas puntos blanquecinos que se vuelven grises, luego amarillentos y finalmente de amarillo de ocre. El cultivo no penetra en la picadura ó la estría; después de algún tiempo se rodea de una zona de liquefacción. El suero es igualmente licuado.

Bumm lo inoculó sin resultado en el útero y la vagina. Por inoculación subcutánea en el conejo, obtuvo un gran abceso, que encerraba gran cantidad de diplococos. Ese mismo observador lo ha vuelto á encontrar luego en la orina de una parida que sufría un catarro vesical, en el contenido de vesículas de pénfigo de un recién nacido y en el pus de un abceso del pecho. Es quizá una especie patógena.

MICROCOCCUS ALBICANS AMPLUS Bumm.—Bumm lo aisló del mucus vaginal, en donde lo considera como raro. Son diplococos aislados, ó á veces reunidos en tres ó cuatro. La forma es la del gonococo, pero son evidentemente mayores; un par mide de 3 μ á 3'5 μ de un extremo á otro.

Crece rápidamente sobre gelatina, ácida ó neutra, á la temperatura ordinaria; forma en el medio una banda grisácea obscura. No debe producir liquefacción.

MICROCOCCUS ALBICANS TARDISSIMUS Bumm.—Son diplococos en un todo semejantes á los del *micrococcus gonorrheæ,* que Bumm encontró en el pus de las evacuaciones uretrales. No se decoloran por el método de Gram.

Esa especie crece con gran lentitud sobre gelatina, sin liquidarla; en estría, sólo se obtiene, al cabo de algunas semanas, una delgada faja de 1 milímetro. Sobre suero á 37°, se forman puntos blanquecinos en dos ó tres días; crecen lentamente y dan pequeñas manchas húmedas, grises, con sinuosos contornos.

Las inoculaciones no dieron resultado alguno.

MICROCOCCUS CITREUS CONGLOMERATUS Bumm.—Bumm lo aisló del pus blenorrágico y del polvillo de aire. Los elementos, que miden cerca de 1 μ, están unidos en diplococos á menudo pegados por parejas. Son muy

(1) Bumm, *Beitrag zur Kenntniss der Gonorrhoe der weiblichen Genitalien (Archiv für Gynäkologie,* XXIII, 1884, p. 327).

parecidos como forma á los gonococos, y se mantienen coloreados por el método de Gram.

Sobre gelatina forma largas colonias de un amarillo de limón, con superficie primero húmeda y brillante, luego agrietada y escamosa.

Parecen no tener acción patógena alguna.

MICROCOCCUS HŒMATODES Babès.--Babès (1) lo aisló de los sudores fétidos del sobaco que dejan en la ropa blanca una mancha rojiza, que varía del rojo de ladrillo al rojo de sangre. El depósito tomado en la ropa blanca está formado en gran parte de *micrococcus* esféricos ú ovoideos, que miden por término medio 1 μ de largo por 0'8 μ de ancho. Están unidos en forma de pequeñas zoogleas por una especie de gelatina transparente rojiza. Se les encuentra en los pelos de los sobacos, de las personas que tienen este mal; rodean su base de una vaina rojiza y les convierten en duros y frágiles.

Esas bacterias se cultivan muy bien sobre claras de huevos cocidos á 37°. Forman zoogleas de un color rojo de sangre. La materia colorante parece idéntica á la del *micrococcus prodigiosus*.

MICROCOCCUS FŒTIDUS Rosenbach.—Rosenbach (2) aisló de una caries dentaria, una bacteria de elementos pequeñísimos ovales, y que difícilmente se colorean.

Es una especie anaerobia, que sólo se desarrolla en el fondo de los tubos de gelosa, inoculados por una profunda picadura. El cultivo va acompañado de la producción de gas de olor fétido.

MICROCOCCUS DECALVANS Thin.— Thin (3) designó bajo este nombre cocos esféricos de 1 μ de diámetro, que observó en la vaina interna de la raíz del cabello, en casos de alopecia, y á la cual considera como causa de esa enfermedad. Sehlen (4) llegó á cultivarlos y pudo determinar en los ratones, á causa de su inoculación, una enfermedad cutánea, con síntomas idénticos. En dos casos de alopecia examinados á ese objeto, Macé ha observado, principalmente en el interior de las células de la vaina de la raíz del cabello, numerosos micrococos perfectamente esféricos, de un diámetro constante de 0'2 μ á 0'3 μ. Existen con gran abundancia en la vaina vítrea que sigue al cabello enfermo de depilación. Ciertamente difieren del *microsporon* descrito por Malassez (1). Sin embargo, Bizzozero (2) y Bordoni (3) consideran al coco observado por Seklen como una de las numerosas especies que se encuentran en estado normal en la piel.

MICROCOCCUS CHOLERŒ GALLINARUM Pasteur. —Es la causa de la enfermedad epidémica conocida con el nombre de *cólera de las gallinas*, la cual puede causar grandes estragos en los corrales. Alcanza á todos los volátiles: pollos, faisanes, patos, ocas, sin que deje libre á ninguna raza. Los pollos suministran el mayor contingente de víctimas y de ahí el nombre dado á la enfermedad.

Perroncito (4) en 1878 había creído debida la enfermedad á *micrococcus* que había observado en la sangre de las gallinas atacadas. Toussaint (5) al año siguiente confirmó este descubrimiento. En fin, en 1880 Pasteur (6) estudió la cuestión en sus menores detalles y resolvió los más interesantes problemas de su etiología y de su profilaxia.

La enfermedad es en general fácil de reconocer; hasta prescindiendo de su carácter epidémico y de la rapidez habitual de su desarrollo, el examen de los individuos enfermos suministra signos inequívocos. Una gallina atacada se presenta sin fuerza, vacilante; sus alas se arrastran por el suelo; sus plumas se erizan, toma la forma de una bola. A menudo una somnolencia invencible la domina; en

(1) Babès, *Vom rothen Schweiss (Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften*, 1882, n.° 19).
(2) Rosenbach, *Mikroorganismen bei der Wundinfectionskrankheiten*. Wiesbaden, 1884.
(3) Thin, *Alopecia areata und Bacterium decalvans (Monatshefte für praktische Dermatologie*, 1885, n.° 28.
(4) Sehlen, *Zur Aetiologie der Alopecia areata (Virchow's Archiv*, XCIX, 1885, p. 327).

(1) Malassez, *Archivos de fisiología*, 1874.
(2) Bizzozero, *Virchow's Archiv*, XCVIII, 1884, p. 451.
(3) Bordoni, *Ueber die biologischen Eigenschaften der normalen Hautmicrophyten (Fortschritte der Medicin*, 1886, n.° 5).
(4) Perroncito, *Ueber das epizootische Typhöide der Hühner (Archiv für wiss. und prackt. Thierheilkunde*, 1879, p. 22).
(5) Toussaint, *Memorias de la Academia de ciencias*, 1879.
(6) Pasteur, *Sobre el cólera de las gallinas. (Memoria presentada á la Academia de ciencias*, 1880, t. XC, p. 239, 952, 1030, et t. XCI, p. 673).

tal estado puede llegar la muerte en poco tiempo, sin que el animal cambie de sitio. Otras veces, el ave está inquieta, agitada de vez en cuando por convulsas sacudidas. Se observa casi siempre una diarrea clara, mucosa. La muerte llega comúnmente en veinticuatro ó treintiséis horas, á veces sólo después de una semana. Existen casos fulminantes en que el animal muere en pocas horas y hasta antes de haberse podido apercibir la enfermedad. En la autopsia se encuentran grandes desórdenes. El hígado es voluminoso, amarillento, jaspeado, muy quebradizo; el bazo tumefacto, blando. El intestino está á menudo lleno de líquido seroso; la mucosa se congestiona y á menudo se ulcera en algunos sitios. El cerebro y los pulmones presentan á menudo equimosis; la sangre del corazón es á menudo negra, pegajosa; los músculos tienen su apariencia normal. La sangre y el líquido de la diarrea encierran gran cantidad de bacterias especiales, cuyo descubrimiento ya hemos indicado antes.

Las bacterias observadas son esféricas ó elípticas, inmóviles, reunidas en pares, rara vez en mayor número. Pasteur las considera como normalmente esféricas y parece admitir, probablemente con razón, que los individuos oblongos ó á menudo ligeramente estrangulados en su parte media (fig. 106), son elementos en vías de bipartición; son para él *micrococcus* que tienen de 0'2 μ á 0'3 μ de diametro. Babès (1) y Flügge (2) por el contrario, les consideran como verdaderos bacilos que tienen 1 μ ó 1'2 μ de largo por 0'25 μ de ancho; según estos últimos observadores, esa forma en palitos podría dar cocos en ciertos cultivos. Como se vé la cuestión no está bien resuelta todavía, por lo cual preferimos, hasta más amplios informes, conservar esta especie en su antiguo lugar.

El *micrococcus del cólera de las gallinas* se cultiva fácilmente, si bien que muestra más exigencias que muchas otras especies patógenas respecto á los medios nutritivos. Crece muy mal en la orina neutralizada y nunca en el agua de levadura, donde vegeta con tanta abundancia el *bacilo del carbunclo*. Se multiplica bien en el caldo de carne y particularmente en el caldo de gallina, el cual invade con gran rapidez. Es un verdadero aerobio, y si bien se contenta con mínimas cantidades de oxígeno, no crece cuando le falta este gas.

En cultivos sobre placas, forma al cabo de tres días, en la gelatina, pequeñas colonias blanquecinas, que sólo llegan con gran lentitud á la superficie. Allí se ostentan en pequeños discos irregulares, amarillentos, granulosos, cuya superficie deja ver á menudo estrías concéntricas. En picadura sobre gelatina, se forma en el canal gran número de pequeñas colonias esféricas, contiguas, que dan un tallo blanco, delicado y en la superficie una pequeña gotita de bordes irregulares, blanquecina y algo transparente (fig. 107).

Sobre gelosa y suero, en estría, se obtiene una delgada faja de color blanco brillante.

Sobre patatas, da, pero sólo en estufa á 30°-37°, una delgada película, algo transparente, amarillenta, que parece una tenue capa de cera.

La enfermedad se transmite por inoculación de sangre de una gallina enferma ó de substancia de un cultivo reciente. Los síntomas habituales se desarrollan, y la muerte llega comúnmente antes del segundo día. No sucede lo mismo si se inocula el producto de cultivos en caldo de gallina, hechos en presencia de un exceso de oxígeno. La virulencia de tales cultivos está muy atenuada; la mayor parte de las veces no producen más que fenómenos locales, perfectamente estudiados por Pasteur. Después de inocular alguno de esos caldos atenuados en el tejido conjuntivo subcutáneo que reviste la espesa masa muscular pectoral, se produce una inflamación del tejido conjuntivo y de una parte del músculo. El músculo se entumece, endurece y blanquea, se vuelve lardáceo; examinado en ese momento, está infiltrado de bacterias, que parecen más largas que las de la sangre; se disocia muy fácilmente. La parte alterada se separa de la parte sana por una membrana formada de tejido embrionario, se amortigua y forma una separación. En casos de curación, la parte muerta es reabsorbida más ó

(1) Babès, *Observaciones sobre el bacilo del cólera de las gallinas. (Archivos de fisiologia,* 1883).
(2) Flügge, *Die Mikroorganismen,* 1887.

menos aprisa; en algunas semanas ó algunos meses, el animal queda perfectamente curado. Ese resultado se puede alcanzar más rápidamente quitando la parte separada. El hecho más curioso é interesante para la práctica es que las gallinas así tratadas son, después de curadas, absolutamente refractarias á las inoculaciones de los cultivos más virulentos ó de sangre de otras gallinas que hayan sucumbido á la enfermedad; están *vacunadas*. El efecto de la vacunación es tanto más seguro, cuanto mayor es la fuerza de la vacuna y, por consiguiente, cuanto más grave ha sido la enfermedad que siguió á la inoculación.

El efecto atenuador es debido al oxígeno que debilita poco á poco la virulencia y hasta acaba por extinguirla completamente. La acción retardadora se deja sentir hasta en la vegetación, la cual es menos abundante en los cultivos atenuados que en los más virulentos. No es debida en ningún caso á la edad avanzada del cultivo, cuando se evita la acción demasiado fuerte del aire; un cultivo puede conservar su virulencia durante mucho tiempo, cuando no tiene á su disposición más que una cantidad muy pequeña de oxígeno. Por otro lado, cultivos repetidos cada día, que no tienen entonces tiempo de atenuarse, guardan indefinidamente el máximum de virulencia; una mínima fracción de gota acarrea infaliblemente la muerte en dos ó tres días, y con más frecuencia en menos de veinticuatro horas.

Pasteur ha reconocido en los líquidos de cultivo, la presencia de un principio segregado por la bacteria, que probablemente debe reunirse á las eptomainas y al cual se deben referir los síntomas enteramente particulares de esta enfermedad epidémica, entre otros la tendencia al sueño tan marcada en todos los individuos infectados. Filtrando el líquido á través de una bujía de porcelana de primera cocción, se le priva de toda célula; una gota inoculada á caldo preparado lo deja indefinidamente estéril. Sin embargo, si se inyecta parte de este líquido filtrado á una gallina joven, muestra al cabo de poco tiempo la somnolencia tan característica de las gallinas enfermas; el sueño es, no obstante, más ligero que el de la enfermedad natural. La bacteria produce, pues, durante su vida una substancia narcótica, á la cual se deben referir ciertos fenómenos observados durante el estado normal de la afección primitiva. Además, hay una independencia absoluta entre el efecto de este narcótico y el verdadero efecto perjudicial de la especie, puesto que Pasteur demostró que el extracto de un cultivo filtrado adormece las gallinas vacunadas al máximum, completamente refractarias á las más virulentas inoculaciones.

Pasteur logró transmitir la afección á gallinas vertiendo algunas gotas de cultivos virulentos en sus alimentos. Los excrementos de estas gallinas hacen perecer rápidamente las gallinas á las que se les inoculan. De ahí puede deducirse, en conclusión, que los excrementos de los animales enfermos contribuyen principalmente al contagio en los corrales.

Además de los animales domésticos, muchas aves silvestres parecen susceptibles de contraer la enfermedad, y también las de pequeña talla, como el gorrión y el pinzón. Los conejos y los ratones sucumben rápidamente á las inoculaciones virulentas; según Pasteur, los conejos pueden también infectarse por el alimento como las gallinas. Las cobayas y los carneros resisten mucho más; la mayor parte de las veces la inoculación en éstos sólo ocasiona una lesión puramente local; se forma un abceso en cuyo denso pus se encuentran multitud de micrococos. Inoculando este pus en gallinas ó conejos mueren rápidamente, al paso que la cobaya puede curar. Las cobayas pueden también servir para transportar la enfermedad sin que se note fácilmente.

Los perros y los gatos han comido impunemente gallinas muertas de tal enfermedad. Según Marchiafava y Celli, cuando se pone en contacto con la piel escoriada del hombre sangre virulenta ó un cultivo virulento, puede formarse un pequeño abceso en el punto de inoculación.

Micrococcus pisttaci Wolff.—Esta especie determina en los papagayos una afección piémica mortal, que hace perecer gran parte de esas aves importadas en Europa, cebándose principalmente en las que vienen de las costas de Guinea. Según dicen Eberth (1) y

(1) Eberth, *Zur Kenntniss der Mycosen bei Thieren (Virchow's Archiv)* 1880, p. 311, t. LXVXXIII).

Wolff (1) que la han estudiado, la enfermedad empieza por una rápida disminución del apetito; los animales se ponen tristes, lánguidos y dejan arrastrar sus alas. Son atacados de diarrea mucosa, acompañada á veces de vómitos de materias amarillo-verdosas; luego sobrevienen convulsiones que terminan con la muerte. En la autopsia, se encuentra el hígado, el bazo y los riñones de un rojo negruzco, llenos de sangre; el hígado principalmente presenta numerosas manchitas grises; la mucosa del intestino es pálida y sembrada de manchas grises. La sangre encierra gran cantidad de *coccus* muy pequeños, aislados, que sólo se colorean débilmente por el violeta de metilo. En los cortes de los órganos citados, los capilares y las venas de gran calibre están rellenas de masas de *micrococcus*, lo mismo que los capilares de las vellosidades intestinales.

Esos *micrococcus* son más pequeños que los de las enfermedades piémicas del hombre. Eberth los encuentra muy parecidos á los que él ha encontrado en un caso de faringitis crupal del pollo.

MICROCOCCUS BOMBYCIS Bèchamp. — Bèchamp (2) había señalado en 1867 la presencia de bacterias en el intestino de gusanos de seda muertos de flaqueria. Es una enfermedad epidémica que puede ocasionar devastaciones considerables en los criaderos de seda atacando principalmente los gusanos robustos próximos á hilar su capullo. Los gusanos enfermos cesan de comer, languidecen y mueren en pocos días. Los cadáveres se pudren rápidamente exhalando un hedor fétido, algo agrio. Pasteur (3), en sus preciosos estudios sobre esta enfermedad, ha demostrado que era debida al desarrollo en el tubo digestivo de varias especies de bacterias, entre las cuales se encuentra principalmente una especie en forma de palitos muy móviles, en los que ciertos artículos presentan esporos y un *micrococcus* con elementos muy pequeños, lo más á menudo en diplococos, á veces en cortos rosarios. Ha logrado encontrar esos mismos organismos en maceraciones de hojas, de las cuales se alimentan los gusanos. Esas diversas especies desempeñan un papel verdaderamente distinto en la infección. El *micrococcus*, por ejemplo, puede desarrollarse en un gusano sin ocasionar su muerte; los palitos móviles son mucho más activos. Los gusanos infectados por la mezcla de esas bacterias con sus alimentos mueren en un tiempo comprendido entre seis y quince días; inoculados por picadura, con una porción de contenido intestinal de los atacados de flaqueria, mueren entre dos ó tres días. Además, la enfermedad determinada por la maceración de hojas de morera no mata al gusano sino en doce ó quince días; en los inoculados con materia tomada de un gusano muerto de dicha enfermedad, la muerte sobreviene más aprisa, en siete ú ocho días comúnmente. Aquí pues, como en otras septicémias, la materia virulenta aumenta su potencia por el paso por un organismo. Coze y Feltz, en su trabajo sobre las enfermedades infecciosas, lo han señalado claramente para otras afecciones septicémias (1).

Los gusanos de seda no son las únicas orugas susceptibles de contraer la flaqueria. Algunas otras especies de orugas de lepidópteros están sujetas á ella, y entre otras hay la *noctua de las mieses*, y el *agrotis segetum*, tan perjudiciales á los cultivos.

La etiología de la flaqueria ha sido aclarada por los experimentos de Pasteur; la causa principal parece que es la detención de los alimentos en el intestino, debida probablemente al imperfecto funcionamiento de este órgano.

MICROCOCCUS DE LA MAMMITIS CONTAGIOSA DE LA VACA Nocard y Mollereau.—Esta bacteria causa una variedad de mamitis crónica (2), cebándose en las vacas de leche; la enfermedad es contagiosa y se propaga rápidamente en los establos. Es el primer síntoma la apari-

(1) Wolf, *Eine verbreitete thierische Mycose (Virchow's Archiv*, XCII, 1883, p. 252).
(2) Béchamp, *Memorias de la Academia de ciencias*, 1867, LXIV.
(3) Pasteur, *Estudio sobre la enfermedad de los gusanos de seda*. Paris. 1879.

(1) Coze et Feltz, *Estudios clínicos y experimentales sobre las enfermedades infecciosas*, 1872.
(2 Nocard et Mollereau, *Mammitis contagiosa de las vacas de leche. (Anales del Instituto Pasteur*, 1887, n.° 3, p. 109).

ción de un endurecimiento en la glándula en la base del pezón. El *nudo* aumenta lentamente y da un tumor del tamaño de un huevo de gallina ó como el puño, mál deslindado, que se pierde insensiblemente en el tejido vecino. También puede ser invadida una gran parte de la glándula, pero poco á poco después de algunos meses. La teta enferma ya no segrega tanto, y la leche que, ordeñando, se obtiene, ha cambiado mucho; su reacción es comúnmente ácida y se coagula aprisa; á menudo desde que sale del pezón, se vuelve amarillenta, granulosa, y despide á veces un hedor fétido; si se mezcla con otra que sea buena toda la masa se altera. Y sin embargo la salud general apenas parece sufrir. Esa afección puede coexistir con otras enfermedades contagiosas, particularmente con el caupox. No hay sino una mera coincidencia fortuita, puesto que las bacterias específicas perfectamente distintas constituyen una excepción de las otras, como consta en las lesiones características de las diversas enfermedades que un mismo individuo puede tener.

Examinando la leche y la pared de los canales excretores, se encuentran numerosos *micrococcus*, redondeados ú ovoideos, que apenas miden 1 μ de diámetro, y que están unidos en forma de rosarios á veces muy largos y sinuosos. Muchos son ovoideos, oblongos y presentan un estrangulamiento en medio, indicio de la división que va á operarse. Se colorean bien por los colores de anilina, pero se decoloran fácilmente; el método de Gram no es aplicable.

Los cultivos son fáciles de obtener con leche, que se haya obtenido, privada de gérmenes extraños por el medio debido á Duclaux (1). Se lava cuidadosamente el pezón con una solución antiséptica, luego se recoge eche en tubos esterilizados, evitando que toquen la teta, después de haber dejado perder el primer chorro.

El caldo ligeramente alcalino, y mejor adicionándole algo de azúcar ó de glicerina, es un excelente medio. Al cabo de veinticuatro horas á 35°, se encuentra en él, cierta cantidad de cadenitas muy largas. Después de algunos días, se ha formado un depósito blanquecino, tenue; el caldo se conserva límpido, pero se enturbia á la menor agitación. Se vuelve ácido después de veinticuatro á ventiocho horas. El exceso de ácido perjudica al cultivo; añadiéndole creta, el cultivo es más vigoroso y se mantiene vivo por más tiempo. Entonces se forma en el caldo, un magma de cristales de lactato de cal; el papel de este *micrococcus* es, pues, el mismo que el *bacillus lacticus*. Apesar de esto, los cultivos no son muy resistentes; permanecen á menudo estériles después de algunas semanas de desarrollo. Esos cultivos parecen también dar resultado al abrigo del aire; es esta una bacteria á la vez aerobia y anerobia.

En cultivos sobre placas de gelatina, se aperciben, al tercero ó cuarto día, pequeñas colonias redondas, granulosas, con bordes limpios, primero transparentes, luego amarillentas y pardas. El desarrollo es muy lento; las de la superficie sólo forman una pequeña eminencia, al cabo de algunas semanas. La gelatina no se licua.

Después de la inoculación en picadura en un tubo de gelatina, al tercer día se forma, en la superficie una tenue película, y una ligera alteración en el canal. Más tarde el cultivo se vuelve más denso, blanco, opaco, granuloso y envía á menudo, finas arborizaciones á la jalea.

En estría sobre gelatina, gelosa y suero, se producen, á lo largo de la estría, pequeñas colonias redondas, translucidas, blanquecinas, que confluyen todas en una delgada película.

La enfermedad se reproduce fácilmente, en la vaca y la cabra, por la inoculación de cultivos puros en el pezón. Las inyecciones en el peritoneo é intravenosas, en el perro, el gato, conejo y cobaya, no han dado resultado alguno.

La enfermedad se comunica perfectamente bien, en un establo, de vaca en vaca, por medio de la mano de las personas que las ordeñan. Al principio se la puede contener, haciendo, después de ordeñar, inyecciones antisépticas, con una solución de ácido bórico

(1) Duclaux, *La leche. Estudios químicos y microbiológicos*. París, 1887, vol. de la *Biblioteca científica contemporánea*.

al 3 por 100, en la glándula enferma; sin embargo, después de curada la glándula ya no segrega tanto. Cuando el mal ha invadido ya una gran parte de la teta, todavía se lo puede detener por medio de inyecciones repetidas con frecuencia, pero la glándula queda completamente perdida.

MICROCOCCUS DE LA MAMMITIS GANGRENOSA DE LA OVEJA Nocard (1).—Se conoce con el nombre vulgar de *mal de la ubre*, una viva inflamación de las tetas, observada principalmente en las ovejas explotadas para la obtención de leche, cuya inflamación pasa al estado grangrenoso y ocasiona comúnmente la muerte del animal en 24, 36 ó 48 horas. La teta atacada se hincha rápidamente, se vuelve dura, muy edematosa, de un color rojo violado, caliente y dolorosa á la presión. La parte enferma está limitada por tejidos sanos como una placa de erisipela. El infarto progresa; luego las partes invadidas se amortiguan. La punción del edema da un líquido rojizo en el cual pululan los micrococos. El estado general se agrava, las tetas se gangrenan enteramente y el animal muere. La mayor parte de las ovejas atacadas sucumben; en algunas el edema se detiene, los tejidos infiltrados mueren y son eliminados lentamente, verificándose la cicatrización; la oveja cura, pero la teta es perdida.

Los micrococos, que se encuentran en la serosidad y la leche desde el primer día son de muy pequeña talla, miden apenas 0'2 μ de diámetro; están aislados ó unidos en cuatro ó en pequeñas masas, pero nunca en rosarios. Permanecen coloreados después de tratados por la solución de Gram.

Se les cultiva muy bien en caldo al que se ha adicionado un poco de azúcar. En veinticuatro horas el líquido se vuelve turbio, lactescente. Al cabo de dos días ofrece un depósito abundante; se ha vuelto ácido aunque menos, no obstante, que cuando se trataba de la especie precedente, y el desarrollo se detiene. Añadiendo un poco de creta al líquido, se prolonga la vegetación. Los cultivos dan igual resultado al abrigo del aire que en su presencia, como sucedía con la especie anterior.

La bacteria se multiplica muy aprisa en la leche; en ella provoca, en veinticuatro horas, la formación de un coágulo firme; en el suero y el coágulo, que se han vuelto ácidos, pululan los micrococos.

En cultivos sobre placas, se observan, en la gelatina, al tercer día, colonias redondas, blancas; aquellas que llegan á la superficie crecen más aprisa y provocan rápidamente la licuación de la jalea. Están formadas de una mancha central redondeada, parduzca, rodeada de una aureola de licuación.

En picadura en un tubo de gelatina, el desarrollo se verifica rápidamente. La licuación es ya perfecta en la superficie hacia el segundo día á 20°. Al quinto día, se obtiene un ancho cono de licuación, cuyo vértice obtuso, vuelto hacia abajo, encierra una masa blanca. En una atmósfera de ácido carbónico, la licuación el mucho más lenta en presentarse; no es perfecta sino al cabo de una docena de días; la bacteria no se desarrolla con abundancia en todo el trayecto de la picadura.

Sobre gelosa se forma un densa película que, de un color blanco mate al principio, se vuelve poco á poco amarillenta.

El cultivo sobre patata da una delgada capa grisácea, con bordes festoneados más gruesos que el centro. Toma poco á poco un tinte amarillo; sólo la zona periférica joven se conserva grisácea.

La inyección de algunas gotas de cultivo en el pezón de una oveja determina una mammitis rápidamente mortal. Los cultivos no conservan intacta su virulencia si no se tiene cuidado de renovarlos cada día. La cabra parece refractaria. Algunas inoculaciones subcutáneas, hechas en perros, gatos, cobayas, no han ocasionado más que un poco de edema en el punto de introducción. En el conejo, al contrario, producen abcesos cuyo pus contiene con abundancia la bacteria en cuestión. Esta mammitis gangrenosa de la oveja no cede á ningún tratamiento; el único medio de salvar la hembra es el que ha sido empleado en todo tiempo por los pastores: practicar una incisión en forma de cruz, extirpar

(1) Nocard, *Nota sobre la mammitis gangrenosa de las ovejas de leche. Anales del Instituto Pasteur*, 1887, n.° 9, p. 417).

los girones de la glándula enferma y curarles con una solución concentrada de sulfato de cobre. Y aún así, la teta queda perdida sin remedio. La etiología de esta enfermedad no se ha aclarado todavía.

MICROCOCCUS DE LA TUBERCULOSIS ZOOGLEICA Malassez y Vignal.—Malassez y Vignal (1) determinaron, en conejos y cobayas, por inoculación de un nódulo tuberculoso subcutáneo del antebrazo, en donde ellos no habían encontrado el *bacillus de la tuberculosis*, una verdadera tuberculosis generalizada, que ocasiona la muerte de estos animales al cabo de seis ó diez días. La enfermedad se reproducía idéntica por inoculación en nueva serie. Las lesiones obtenidas eran de granulaciones en apariencia de tuberculosis, en el centro de las cuales se encontraban masas irregulares, vítreas ó caseosas. Estas masas de grosor variable, que alcanzan hasta 6 μ de diámetro, estaban constituídas por zoogleas de *micrococcus* esféricos ó ligeramente ovales, que medían por término medio de o'5 μ á. o'6 μ, dispuestos á menudo en pares ó en largos rosarios ondulados, y reunidos entre sí por medio de una ganga de jalea transparente. Los precitados autores, obtuvieron cultivos de estos *micrococcus* sobre suero sanguíneo y determinaron, inoculando tales cultivos á cobayas y conejos, resultados idénticos á los primeros. Pero á la tercera generación, encontraron siempre, en las granulaciones, el *bacilo tuberculoso*. De ahí han deducido que los productos que sirvieron para sus experiencias, contenían al principio algunos *bacilos tuberculosos*, cuya evolución es mucho más lenta que la del micrococo. Los cocos se colorean muy bien tratados por la solución de azul de metilo en el agna de anilina, se decoloran por el carbonato sódico y el alcohol.

Nocard (2) dió la descripción de una tuberculosis zoogleica del pulmón en gallinas. La enfermedad hacía estragos en todo el gallinero.

(1) Malassez y Vignal, *Respecto el microorganismo de la tuberculosis zoogleica. (Archivos de fisiología*, 1883 et 1884).

(2) Nocard, *Recuerdo de medicina veterinaria*, mayo 1885.

Eberth (1) observó dos casos de tuberculosis con *micrococcus* en la cobaya. La pseudotuberculosis del conejo (2) recuerda en todas sus partes la enfermedad determinada por Malassez y Vignal, pero las bacterías son cortos bastoncitos.

En fin, Chantemesse (3) ha obtenido recientemente una enfermedad experimental idéntica á la de Malassez y Vignal, introduciendo en el peritoneo de cobayas, con todas las precauciones antisépticas requeridas, fragmentos de algodón en rama, por el cual había filtrado cerca de 100 litros de aire de una sala de hospital que encerraba gran número de tísicos.

Las lesiones descritas por este último experimentador son en un todo semejantes á las obtenidas por los primeros. La cavidad abdominal es la principalmente invadida. Los ganglios del mesenterio muestran en su superficie pequeños tumores amarillos; las mayores de esas granulaciones están formadas en el centro, por una masa opaca de pus espeso. El bazo y el hígado se presentan picados de pequeños nódulos, que parecen granulaciones tuberculosas. El intestino no ofrece ninguna particularidad; los pulmones presentan granulaciones análogas á las del hígado, pero menos numerosas. Esas lesiones ofrecen, á simple vista y á menudo con el microscopio, el aspecto de alteraciones tuberculósicas. Coloreándolas por el procedimiento de Malassez y Vignal, ó por medio de la solución alcalina de azul de metilo de Löffler, su centro aparece formado de pequeñas masas de micrococos semejantes á los descritos por los primeros autores.

Ninguno de los observadores citados ha dado indicaciones respecto al cultivo de estas bacterias.

Quizás se deba aproximar á la pseudotuberculosis determinada experimentalmente por Foà y Bordoni (4), por la inoculación de

(1) Eberth, *Zwei Mykosen des Meerschweinchens* (*Virchow's Archiv*, C, 1885, p. 23).

(2) Eberth, *Pseudo-tuberculosis de los Kaninchens* (*Fortschritte der Medicin*, 1885, p. 179).

(3) Chantemesse, *La tuberculosis zoogleica. (Anales del Instituto Pasteur*, I, 1887, n.° 3, p. 97).

(4) Foà y Bordoni, *Asociación medical italiana*. (Véase *Semana medical*, 1887, p. 431).

cultivos atenuados de *micrococcus Pasteuri*.

MICROCOCCUS DE LA NECROSIS PROGRESIVA DEL TEJIDO CONJUNTIVO DEL RATÓN Koch (1).—Inyectando á ratones domésticos sangre en putrefacción, Koch determinó una afección rápidamente mortal, debida á la acción combinada de un bacilo y de un micrococo. Pudo aislar este último inoculando una gota de sangre tomada del primer ratón, á un ratón campesino, el cual presenta la particularidad de ser refractario á la acción del bacilo que luego estudiaremos con el nombre de *bacillus murisepticus*. En el punto de inoculación, se produce una gangrena que marcha con rapidez é invade progresivamente los tejidos cercanos y ocasiona generalmente la muerte en tres días. El parásito no se encuentra ni en la sangre de la circulación general, ni en los órganos internos; se le encuentra exclusivamente en la región invadida.

Son células redondas que miden 0'5 μ de diámetro, formando largas cadenas de elegantes curvas.

MICROCOCCUS DE LA SUPURACIÓN PROGRESIVA DEL CONEJO Koch.—Se aisló de la sangre en putrefacción, por inyección subcutánea al conejo. Se forma en el punto de la picadura una tumefacción rápida, y luego un abceso que se difunde por las partes cercanas. La muerte llega al cabo de doce días. El pus inoculado á otro conejo produce la misma enfermedad. Las paredes de la colección purulenta están recubiertas de una capa espesa de bacterias muy pequeñas, de 0'15 μ de diámetro; también se encuentran grandes zoogleas fusiformes entre los haces del tejido conjuntivo que rodea al abceso. El pus del centro del abceso no contiene de ellos, lo mismo que la sangre.

MICROCOCCUS DE LA PIEMIA DEL CONEJO Koch.—Koch produjo en el conejo una infección purulenta generalizada, por la inyección, bajo la piel, de un líquido de maceración. Se observa primero edema en el punto de inoculación, luego una infiltración purulenta y la muerte al cabo de tres ó cuatro días. En la autopsia, además de las lesiones locales, se encuentran abcesos metastáticos en el pulmón y el hígado y un gran hinchamiento del bazo. En los vasos, se encuentran masas compactas de *micrococcus* redondos, de 0'25 μ de diámetro, abarcando á menudo glóbulos rojos; así se forman trombos que puedan llenar los capilares.

MICROCOCCUS DE LA SEPTICEMIA CONSECUTIVA AL CARBUNCLO Charrin.—Inoculando al conejo sangre de alguno de sus congéneres muere poco tiempo después del carbunclo, Charrin (1) determinó una septicemia que ocasionaba la muerte en dieciocho ó cuarentiocho horas. Los principales caracteres son: en la autopsia, un edema rojizo en el punto de inoculación, y un gran hinchamiento del bazo. Se encuentran en gran abundancia en la sangre de todos los órganos, *micrococcus* redondos ó ligeramente ovoideos, de 1 á 2 μ de diámetro dispuestos en largos rosarios que pueden tener hasta veinte artículos. Es un aerobio, ligeramente móvil, que se cultiva muy bien en el caldo, aunque pierde en él, muy aprisa, su virulencia. Los cultivos mueren á 45°.

La enfermedad se transmite al conejo, al gorrión y algunas veces al ratón. El perro, la gallina, la cobaya y la rana la resisten. El *micrococcus de la septicemia del conejo* de Koch mata, por el contrario, fácilmentente á las gallinas.

MICROCOCCUS DE LA SEPTICEMIA DEL CONEJO Koch.—Inoculando á conejos sangre de buey en putrefacción, Davaine (2) determinó en esos animales una septicemia de forma completamente especial. Koch (3) reprodujo la misma afección por la inoculación de carne macerada en putrefacción. Después de la muerte, que sobreviene al cabo de uno á tres días, se encuentra un poco de edema enderredor del punto de inoculación y un gran

(1) Koch, *Ueber die Aetiologie der Vundinfectionskrankheiten* Leipzig, 1878.—*Zur Untersuchung von pathogenen Organismen* (*Mittheilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte*, I, 1881.—Véase también Gaffky, *Ueber experimentell erzeugte Septicémie (id.)*.

(1) Charrin, *Nota respecto una septicemia. (Sociedad de Biología*, 2 agosto 1884).

(2) Davaine, *Investigaciones respecto algunas cuestiones relativas à la septicemia. (Boletín de la Academia de medicina*, 1872, p. 907 y 976 .

(3) Koch, *Ueber die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten*. Leipzig, 1878.

hinchamiento del bazo. En los capilares de los órganos, y principalmente en los glumérulos del riñón, se encuentran masas de *micrococcus*, que obturan el calibre de los vasos. Esos elementos son ovales y miden de o'8 μ á 1 μ en su diámetro mayor. La serosidad del edema y la sangre contienen bacterias de esa clase y pueden, por inoculación, transmitir la enfermedad á los conejos y ratones; para ello se debe inyectar bajo la piel una cantidad bastante considerable de sangre, de diez á doce gotas según Koch. Se tienen muy pocos detalles respecto los cultivos de esta especie; se desarrolla bien sobre gelatina, sin causar licuación.

Los síntomas ocasionados por la inoculación en los conejos son idénticos á los que determina, en estos animales el *micrococcus del cólera de las gallinas*. Sin embargo, según Davaine, las gallinas son refractarias á la especie que estudiamos.

Daremberg (1) describió una septicemia, muy parecida ó idéntica, que obtuvo inoculando al conejo productos tuberculosos. La muerte llega al cabo de veinticuatro ó cuarentiocho horas. Los síntomas se parecen á los descritos por Koch. La enfermedad es epidémica y se transmite fácilmente á los conejos de las cercanías. Las cobayas resisten más que los conejos. La sangre y los órganos de los conejos muertos contienen *micrococcus* ovoideos, dispuestos en cadenitas ó en masas, rara vez en parejas ó de cuatro en cuatro, que se cultivan sobre gelatina sin licuarla. Los cultivos conservan su virulencia después de haber sido calentados á 55°. Se atenúan rápidamente; los segundos cultivos son ya menos activos que los primeros.

MICROCOCCUS SALIVARIUS SEPTICUS Biondi.— Biondi (2), en sus investigaciones sobre las bacterias de la saliva, sólo la encontró una vez, en la saliva de una mujer enferma de fiebre puerperal. Esta saliva inoculada bajo la piel de ratones, cobayas y conejos los mataba en un espacio de tiempo variable entre cuatro y seis días. Se les encuentran numerosos cocos en la sangre y pequeñas masas en los tejidos, que no presentan ningún síntoma de inflamación en sus cercanías. La sangre de esos animales, inoculada á otros, les hace perecer con los mismos síntomas.

Los cocos son regularmente esféricos, aislados, reunidos en parejas ó en pequeñas masas. Se colorean bien por los colores de anilina y aparecen coloreados por el método de Gram. Se cultivan fácilmente en los medios habituales, á parte de la leche y las patatas. Se cultivan al aire libre ó en una atmósfera azoada.

En cultivos sobre placas, se obtienen colonias circulares grisáceas, que no licuan la gelatina. En picadura en un tubo de gelatina, se forman, en el trayecto de la aguja, pequeñas colonias redondas, pegadas entre sí, y casi nada en la superficie.

Por inoculación de productos de cultivos, se obtienen los mismos resultados que con la sangre contaminada, solamente que entonces es preciso usar dosis mucho mayores. Se debe inocular el equivalente de cuatro á seis cultivos para llegar á los trastornos ocasionados por una ó dos gotas de sangre. Este *micrococcus* se debe quizás agrupar con el *micrococcus Pasteuri*.

MICROCOCCUS SEPTOPYÆMICUS Biondi.— Biondi (1) lo aisló por tres veces de la saliva de enfermos que sufrían, uno de una angina flemosa, y los otros dos de una erisipela de la laringe. En dos de esos casos, la saliva, examinada desde su emisión, presentaba largas cadenas de cocos y ninguna otra bacteria con ellos; en el tercero había además *micrococcus tetragenus*. La saliva es patógena para los ratones, las cobayas y los conejos. Estos últimos mueren en quince ó veinte días de una especie de septicemia crónica. En la sangre y el jugo de los órganos se encuentran numerosos cocos esféricos, que miden de 0,7 μ á o'8 μ, aislados ó reunidos en largas cadenas que muestran una disposición en parejas bien evidente.

Esos *micrococcus* no licuan la gelatina, so-

(1) Daremberg, *Nota sobre una septicemia del conejo.* (*Sociedad de Biología*, 1886, p. 457).

(2) Biondi, *Die pathogenen Mikroorganismen des Speichels* (*Zeitschrift für Hygiene*, II, 2.ª p., p. 194).

(1) Biondi, *loc. cit.*

bre la cual crecen como sobre gelosa, aunque con más lentitud. En cultivo sobre placas, en tres días á 20°, forman colonias ovaladas, de un color amarillo pardo con los bordes toscamente hendidos. En picadura, dan pequeñas colonias redondas, aisladas, mayores en la parte superior.

Sobre patatas y sobre suero, se desarrollan, cerca del punto de inoculación, pequeñas colonias deprimidas, de un blanco sucio, cuya extensión se detiene pronto.

El caldo se enturbia con rapidez y ofrece largas cadenas onduladas.

Los resultados de la inoculación de cultivos puros son inciertos; son simples rubicundeces erisipelatosas. Todos los caracteres son muy parecidos á los que ofrecen el *micrococcus pyogenes* y *micrococcus erysipelatis*.

MICROCOCCUS SALIVARIUS PYOGENES Biondi (1).—Después de una inyección subcutánea de saliva, suele obtenerse, en los animales del experimento, una supuración local. Se forma en el punto elegido, al cabo de tres ó cuatro días, un hinchamiento que se hace fluctuante. En medio de los glóbulos de pus se encuentra siempre un *micrococcus* dispuesto en pequeñas masas, completamente semejante á los *micrococcus pyogenes aureus* y *micrococcus pyogenes albus*. Ese pus, inyectado á otros animales, produce idénticos síntomas á los determinados en los primeros por inyección de saliva. Al cabo de veinticuatro horas, se forma, en el punto de inoculación, un abultamiento duro y muy doloroso á la presión. Al cuarto día, el centro se vuelve más blando y del sexto al séptimo día, se apercibe una fluctuación bien distinta. Abierto el absceso deja salir un pus amarillo, caseoso, que contiene en gran cantidad los *coccus* anteriormente indicados.

Son estos, *coccus* esféricos de pequeña talla, de 0'3 μ á 0'5 μ de diámetro, aislados ó en pequeñas masas, pero nunca en diplococos ó en cadenas. Se colorean bien por el método de Gram. Nunca se les encuentra en la sangre.

Se cultivan bien sobre gelatina á la cual licuan lentamente.

(1) Biondi, *loc. cit.*

En cultivos sobre placas, las colonias aparecen al cabo de dos ó tres días; son redondas, de bordes limpios, de un color blanco opaco. En cinco ó seis días han alcanzado su máximo, luego licuan lentamente la gelatina que las rodea.

En picadura en un tubo de gelatina, á 12°-14°, el desarrollo se efectúa primero en la superficie, luego en el canal. Al octavo día, se ha formado un embudo de liquefacción que aumenta poco á poco. El líquido es turbio y contiene en suspensión pequeños grumérulos, de aspecto grasiento, que se reunen principalmente en la punta del embudo. En la superficie de la gelatina licuada, se encuentra una delgada película muy viscosa.

Sobre gelosa, el crecimiento es muy rápido. El cultivo es ya visible en veinticuatro horas á 35°. Forma al cabo de algún tiempo, á lo largo de la estría, una espesa faja que puede alcanzar un centímetro de ancho. En el centro, este cultivo tiene un hermoso color anaranjado; la parte periférica es blanca. El color amarillo es menos intenso que el del *micrococcus pyogenes aureus*.

Sobre suero, se obtiene una colonia blanquecina y opaca. El caldo se enturbia en dos horas á 35°, pues deja ver al cabo de algún tiempo un espeso depósito blanco. La leche se coagula muy pronto; la caseina se precipita en grandes copos.

Los cultivos son virulentos; su inoculación produce los mismos efectos que la del pus. Todavía son activos después de muchas generaciones; conservados durante seis meses guardaron toda su virulencia, que resiste asimismo una desecación prolongada.

Esas particularidades difieren poco de las que pertenecen al *micrococcus pyogenes aureus* y *micrococcus pyogenes albus*, cuya presencia en la saliva señaló Vignal (1). No obstante, según Biondi, la distinción es perfecta. El *micrococcus salivarius pyogenes* licua lentamente la gelatina; la licuación no empieza á 12°-14° sino al vigésimo día; en este momento los demás ya han licuado buena porción de la jalea. La coloración del primero es de un

(1) Vignal, *Investigaciones sobre los microorganismos de la boca*. (*Archivos de fisiología*, 1886, n.° 8).

amarillo de oro más claro que el del *micrococcus pyogenes aureus*; forma á menudo en la superficie de la gelatina licuada una película que no se observa con los demás. En fin los cocos están más aislados en el pus. Después de haber estudiado gran número de cultivos de *micrococcus pyogenes aureus*, llega uno á convencerse de que los caracteres citados están lejos de ser perfectamente diferenciados. La liquefacción determinada por esta última especie, muy á menudo sólo marcha con lentitud, cuando se utilizan para inocular cultivos de la tercera ó cuarta generación; la coloración de colonias sobre gelosa es también menos viva. En fin puede observarse con frecuencia, sobre la gelatina licuada por el *micrococcus pyogenes aureus* esta película muy viscosa, adherible al hilo de platino y se deja estirar en hilos, lo que consideraba Biondi como tan característico para esta especie. Son necesarias nuevas investigaciones para dilucidar la cuestión y establecer la verdadera naturaleza de las especies estudiadas por Biondi.

MICROCOCCUS DIPTHERICUS Cohn.—Oertel (1) hizo constar, en 1871, la presencia de *micrococcus* y de palitos en las falsas membranas de la difteria y los tejidos enfermos y consideraba á los primeros como causa probable de la enfermedad. Cohn (2) estableció para ellos esta especie, la cual considera también que desempeña el papel principal. Löffler (3), en sus hermosos estudios respecto de la difteria del hombre y de los animales, describe bajo el nombre de *micrococcus en cadenas (kettenbildend)*, una bacteria esférica que debe identificarse con la especie de Cohn. Sus experimentos, sin embargo, no permiten atribuirle el papel importante que le asignaban los primeros autores. Cornil (4), que los observó igualmente, lo identifica con el *micrococcus pyogenes*.

Son células redondas, que miden cerca de 0'8 μ á 1 μ, alineadas á menudo en diplococos que forman por su unión cadenas más ó menos grandes.

Esta especie se cultiva fácilmente en los medios ordinarios.

En el caldo peptonizado y azucarado, forma en veinticuatro horas á 37°, tenues copos fibrosos, ondulados; el líquido se mantiene límpido. Estos copos están constituídos por largas cadenas de cocos, anastomosadas, cuyo número de elementos puede pasar de cien.

En picadura sobre gelatina, se observan, al tercer día, en el canal de la picadura, pequeñas gotitas transparentes, que toman muy pronto un tinte grisáceo; en la superficie se desarrolla una colonia parda, finamente punteada, con bordes ondulados. Esas ondulaciones están formadas por largas cadenas de grandes diplococos, lo que se ve fácilmente con sus verdaderos caracteres, haciendo una preparación por impresión. La gelatina no es licuada. Los cultivos bien desarrollados se parecen en todos sus puntos á los del *micrococcus de la erisipela*.

Sobre gelosa ó suero solidificado, á 37°, se obtiene una capa blanquecina bastante delgada, opaca con reflejos nacarados.

Sobre patata el cultivo es muy lento; no es aparente hasta después de ocho días.

Los cultivos, inoculados á animales, nunca han ocasionado síntomas diftéricos, sino únicamente una enfermedad local parecida á la erisipela. Según Löffler, este *micrococcus* no es la verdadera causa de la difteria, pero se encuentra en ella con frecuencia. Podría, no obstante, desempeñar un papel activo en esta enfermedad y quizás producir falsas membranas. En un caso de difteria, observado por él en un niño de teta, se encontraba sólo y había invadido toda la mucosa de la laringe.

MICROCOCCUS EN LA ESCARLATINA.—Coze y Feltz (1) señalaron en 1872, la presencia de *micrococcus* de 0'6 μ de diámetro, en la sangre de enfermos atacados de escarlatina. Pohl

(1) Oertel, *Experimentell Untersuchungen über Diphterie (Deutsches Archiv für klinische Medicin*, VIII, 1871).
(2) Cohn, *Untersuchungen über Bacterien (Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, I, 2.ª p.).
(3) Löffler, *Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen fur die Entstehung der Diphtérie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalbe (Mittheilangen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte*, II, p. 421, 1884).
(4) Cornil y Babès, *Las bacterias*, p. 254 2.ª ed.

(1) Coze y Feltz, *Investigaciones clínicas y experimentales respecto de las enfermedades infecciosas*, 1872.

Pincus (1) dijo en 1883, haber encontrado *coccus* de 0'5 μ en escarlatinosos, en la superficie de la epidermis descubierta y en el velo del paladar en un caso de angina.

En 1886, á propósito de una epidemia muy mortífera de escarlatina que se cebó en Londres, Power (2) creyó poder relacionar esta enfermedad á una afección contagiosa desarrollada en las vacas y explicar la transmisión al hombre por el uso de leche cruda procedente de animales enfermos. La enfermedad bovina fué estudiada por Klein (3); las vacas que estaban atacadas de ella, presentaban en las mamas y los pezones, ulceraciones que, inoculadas á bueyes, se reproducían idénticas. A menudo la enfermedad se agravaba y los animales sucumbían, con síntomas que recuerdan los de la infección purulenta. Las ulceraciones de la vaca contenían gran número de diplococos aislados ó unidos en cadenas de dos á veinte pares.

Klein pudo cultivar este *micrococcus*, inoculando tubos de gelatina y gelosa con linfa recogida en la parte profunda de la ulceración. Ha observado, después de tres días á la temperatura ordinaria, pequeñas esferas blancas á lo largo de la picadura y, en la superficie, una pequeña colonia plana, que no alcanza gran desarrollo; la gelatina no era licuada. Cultivada en la leche esta bacteria, la coagula en dos días á 35° y el coágulo se conserva firme.

Los cultivos han sido inoculados á bueyes; uno de ellos murió al cabo de veintiséis días. El punto de inoculación era asiento de un marcado abultamiento; los ganglios cercanos estaban muy tumefactos. La autopsia demostró que había pericarditis y peritonitis con serosidad purulenta; el hígado hiperemiado y aumentado de volumen; los pulmones en parte hepatizados, cuya exudación encierra gran cantidad de diplococos. La faringe estaba roja é hinchada; la mucosa del intestino delgado pálida y las placas de Peyer tumefactas. La sangre del corazón, puesta en cultivo, dió cadenitas de micrococos.

Este *micrococcus*, mirado como específico por Klein, no sería, según datos más recientes, sino el *micrococcus pyogenes*, y la enfermedad de la vaca una forma de caupox.

Jamieson y Edington (1) han vuelto á tomar este estudio respecto del hombre en Edimburgo. Han encontrado en la sangre y en la piel de los escarlatinosos ocho especies de bacterias, en su mayor parte comunes en todos ellos. Como nuevos y en relación más ó menos directa con la enfermedad, Edington describe dos *micrococcus* y un *bacillus*. Uno de los micrococos, que se denomina *streptococcus rubiginosus*, no es infeccioso y sólo aparece al final de la enfermedad. El segundo, *diplococcus scarlatinæ* da sobre gelatina colonias de color blanco amarillento que no la licuan; no es patogena. A Edington le parece que el *bacillus* es el verdadero agente del contagio, y le denomina *bacillus scarlatinæ*. Son bastoncitos móviles, que miden de 1'2 μ á 1'4 μ de largo por 0'4 μ de ancho. Forman en su interior esporas ovales, de 1 μ á 1'5 μ de largo por 0'6 μ á 0'75 μ de ancho, rodeados de una especie de cápsula que se colorea débilmente con una solución diluída, de azul de metileno. Cultivada sobre caldo esta bacteria forma en él un velo. Licua rápidamente la gelatina; el líquido turbio al principio, se vuelve poco á poco límpido. Sobre patata, da en veinticuatro horas á 18°, una colonia de color amarillo de limón, la cual invade toda la superficie. Esta especie se encuentra siempre en los cultivos que se hacen con epidermis sin escamas, á partir del día vigésimo quinto. Inoculada en conejos y cobayas les produjo una elevación de temperatura y una rubicundez eritematosa muy extensa. Un buey joven, al cual se había hecho una inyección subcutánea de cultivo, murió con fiebre; su sangre contenía los mismos bacilos.

---

(1) Pohl Pincus, *Befund an der Epidermisschuppen von Scarlachkranken in der Schälungsperiode (Centralblatt für die Medicin. Wissenschaften*, 1883, n.° 36).

(2) Power, *Milk-Scarlatina in London (Report of the medical Officer of Local-Governement Board for 1885-1886*, n.° 8, p. 73).

(3) Klein, *The etiology of scarlat fever (Proceedings of the Royal Society London*, XLII, 1887).

(1 Jamieson y Edington, *Observations on a mehod of prophylaxis and on investigation into the nature of the contagium of scarlet fever (The British medical Journal*, 1887, 11 junio, p. 1262).

Edington observó en otro, un hinchamiento del velo del paladar y una inflamación de la lengua.

Poco después Smith (1) anunció haber encontrado en cultivos de sudamina de un hombre sano, una bacteria idéntica al *bacillus scarlatinæ* de Edington. Una comisión nombrada por la sociedad médico-quirúrgica de Edimburgo para examinar los experimentos de Edington, obtuvo resultados completamente contrarios á los anunciados por ese autor. El *bacillus scarlatinæ* no tiene ninguna acción patógena sobre los bueyes; su presencia en la piel del hombre es puramente accidental; quizás sea idéntico al *bacillus subtilis*, tan esparcido. Finalmente, el *streptococcus rubiginosus* es idéntico al micrococo descrito por Klein, es decir al *micrococcus pyogenes*.

Picheney (2) cree, como Klein, poder relacionar la escarlatina del hombre á una enfermedad de la vaca, pero no da ninguna prueba concluyente en apoyo de su opinión.

Se ve por estos datos, que la etiología de esta enfermedad, tan eminentemente contagiosa y evidentemente de origen bacteriáceo, dista mucho de estar dilucidada.

MICROCOCCUS EN LA VIRUELA.—Coze y Feltz (3), en 1866, reconocieron que la sangre de los variolosos encerraba pequeñitas bacterias unidas en rosarios. Más tarde (4) precisaron sus caracteres y los volvieron á encontrar en la linfa de una pústula no purulenta. Al lado de *micrococcus* de o'4 μ de diámetro, señalan *bacillus* de 1'2 μ de longitud.

Cohn (5) describió en 1872, bajo el nombre de *micrococcus vaccinæ*, bacterias redondas, reunidas en cadenas ó en pequeñas masas, que encontró en la linfa de pústulas vaccinales del hombre y animales; observó otros semejantes en los capilares del hígado y del riñón de los variolosos.

La creencia de ser bacteriácea la vacuna y procedente de la viruela fué sólidamente apoyada por los experimentos concluyentes de Chauveau, quien, en 1868, había demostrado que el principio varioloso de la vacuna no residía en el líquido, sino únicamente en las granulaciones que tiene en suspensión. La vacuna filtrada por porcelana es siempre inofensiva.

Cornil y Babés, encuentran micrococos en las lagunas del cuerpo mucoso de las pápulas variolosas.

Quist asegura haber cultivado vacuna en suero de sangre de buey, á la que había adicionado glicerina; al cabo de ocho ó diez días se desarrollaba una tenue película, formada de micrococos., noculando al niño, producto de este cultivo, le ocasionó una pústula vaccinal confiriendo la inmunidad para la vacuna. Ningún observador pudo confirmar tales resultados.

Voigt aisló de la vacuna tres especies de *micrococcus*. La primera no licua la gelatina; la constituyen *coccus* á menudo reunidos en pares, que dan, en cultivos sobre placas colonias parduzcas circulares. En picadura sobre gelatina, forma una delgada película en la superficie y un ligero enturbiamiento en el canal. La inoculación de un cultivo puro confiere al buey la inmunidad para el caupox. La segunda especie, que no es constante, está formada de grandes *coccus*, que producen un cultivo granuloso, verduzco, que licua la gelatina. Y finalmente una última especie, que encontró en la varicela, que según parece no tiene ninguna acción patógena y cuyos cultivos licuan también la gelatina.

Guttmann aisló del contenido de pústulas de viruela los *micrococcus pyogenes aureus* y *micrococcus cereus albus*; además, pústulas de varicela le han suministrado una tercera especie, nueva, el *micrococcus viridis flavescens*.

Marotta (1) encontró, en el contenido de una pústula de viruela, un *coccus* dispuesto

(1) Smith, *Note on the so-called Bacillus scarlatinæ of Drs. Jamieson and Edington (The British medical Journal*, 9 julio, 1887).

(2) Picheney, *Investigaciones respecto al origen bovino de la escarlatina. (Informes de la Academia de Ciencias*, CV, 1887, p. 677).

(3) Coze y Feltz, *Estudios experimentales respecto la presencia de infusorios y el estado de la sangre en las enfermedades infecciosas*. Strasbourg, 1866.

(4) Coze y Feltz, *Investigaciones clínicas y experimentales respecto las enfermedades infecciosas*, 1872.

(5) Cohn, *Virchow's Archiv*, LV, 1872.

(1) Marotta, *Ricerche sul Microparassitica del vajuolo (Rivista clínica e terapeutica*, VIII, nos 11 et 12, 1886).

en tetradas, al que considera como específico. Inoculando en bueyes, cultivos puros de la séptima generación, obtuvo pústulas vacunales típicas. Los caracteres de los cultivos recuerdan en un todo los del *micrococcus pyogenes aureus*; hay verdadera confusión.

Es muy probable que los experimentos de Tenholt (1) estén también llenos de causas de error. El reconoció en la linfa vaccinal, la presencia de una docena de *micrococcus*, de dos bacilos y de dos fermentos.

Hlava llegó á los mismos resultados que Guttmann; aisló de pústulas de viruela, los *micrococcus pyogenes, m. pyogenes albus, m. viridis flavescens, m. cereus albus*. Pero ya sabemos que ninguna de tales especies puede considerarse como específica.

Los de las investigaciones de Garré son más serios, pero todavía distan mucho de resolver la cuestión. Obtuvo éste de pústulas de vacuna y de viruela, un *micrococcus* que le pareció específico y dos *bacillus* en forma de cortos bastoncitos, que no tenían acción alguna sobre el organismo.

Los cocos de la primera especie son pequeñitos y de fácil cultivo. Dan sobre gelatina un cultivo parduzco, espeso, homogéneo; no licuan el medio. Sobre gelosa, forman manchas de un color blanco sucio y mate, que no parecen homogéneas, pero que están formadas por pequeños copos reunidos. La leche es coagulada con rapidez y el suero sólido licuado. Inoculando tales cultinos al buey, le producen regulares pústulas que dan los mismos cocos; la vacuna ordinaria no hace presa de estos animales. Sobre el hombre se obtienen pústulas semejantes, pero ninguna inmunidad para la vacuna. Las inyecciones subcutáneas de esos cultivos no determinan ninguna inflamación.

Los resultados obtenidos hasta ahora distan mucho de ser satisfactorios; la cuestión puede evidentemente ser objeto de hermosas investigaciones. Observadores alemanes, guiados por los trabajos de Laveran sobre las fiebres palúdicas, describieron, en la linfa de pústulas de viruela, protozoarios que consideran como causa verdadera de la enfermedad. Pfeiffer vió en el hombre y los mamíferos, organismos de 9 μ de largo, los que refiere á las coccidias. Lœff señaló, en dos casos de viruela afluente, la presencia de séres inferiores que considera como amibas. Por lo demás no han intentado ninguna prueba experimental. Después Pfeiffer modificó su opinión, y, entre los organismos que él ha encontrado en la linfa de pústulas vaccinal, se encuentra un fermento de células redondeadas ó elipsoidales que miden de 1'5 μ á 4'4 μ, al que denomina *saccharomyces vaccinæ*. ¿No será esta la llamada coccidia? Él ha reconocido además las *sarcina lutea* y *sarcina aurantiaca*, comunes en el aire, y otras dos sarcinas cuyos caracteres son poco distintos; un bacilo en cortos palitos, que forma colonias que recuerdan las del *proteus vulgaris* de Hauser; el *micrococcus pyogenes aureus* y el *m. cereus albus*, son los más frecuentes en el líquido vaccinal.

MICROCOCCUS EN EL SARAMPIÓN.—Coze y Feltz, en su obra precitada, señalan en la sangre de los niños enfermos de sarampión, la presencia de pequeñas bacterias muy móviles. Esos *puntos móviles* se observan principalmente, según ellos, en la sangre tomada en un punto del cuerpo en que existe la erupción; son mucho menos numerosos en la sangre recogida en las partes indemnes.

Cornil y Babés encontraron en la sangre, *micrococcus* redondos de 0'8 μ de diámetro, unidos á menudo en diplococos ó en pequeños rosarios; han encontrado otros idénticos á los primeros en las secreciones nasal y conjuntiva. Las mismas bacterias existían en los esputos de los niños atacados de sarampión pneumónico; en los pulmones de individuos muertos de esa complicación tan frecuente, el contenido alveolar encierra considerable cantidad de diplococos.

Sangre recogida al nivel de las manchas del exantema da, sobre suero, según estos autores, un cultivo delgado, superficial, que se asemeja al del *micrococcus pyogenes*. Ese cultivo está formado de cocos en cadenitas. Inoculando una partícula de este cultivo bajo la piel de la nariz de una cobaya, le produjo

(1) Tenholt, *Die Bakterien der Kälberlymphe (Correspondenzblatt der allgemein ärtzlichen Vereins von Thüringen*, 1887, n.° 6).

rubicundeces difusas, fiebre y una ligera conjuntivitis.

Esos son los únicos datos serios que se poseen respecto á esta enfermedad, una de las más contagiosas seguramente.

MICROCOCCUS EN LA FIEBRE AMARILLA.—Nada hay cierto en la patogenia de esta enfermedad, si bien que su marcha corresponde á las manifestaciones de la vida de una bacteria.

Domingo Freire describió en una serie de trabajos, que hizo siguiendo métodos poco recomendables (1), un organismo que él denomina *cryptococcus xanthogenicus* y considera como específico de la enfermedad. Muy pronto se reconoce en la lectura, que no puede darse ninguna fe á los resultados enunciados.

Cornil y Babés encontraron, en piezas tomadas á la autopsia, *coccus* en cadenitas, bastoncitos y grandes *coccus*, de 1 μ de diámetro, encontrados también en el contenido intestinal, cerca de los cuales existían pequeñas masas de pigmento amarillo ú obscuro.

Gibier, que se había asociado al principio á los estudios de Freire, aprobando sus resultados, llegó en investigaciones recientes, á conclusiones muy distintas. Minuciosos exámenes no le han dejado ver nada en la sangre ó la orina, por el examen directo ó por cultivo. Por el contrario, en el vómito negro especial, que ha dado á la enfermedad su nombre vulgar *(vómito)*, ha encontrado un número considerable de especies. De él aisló una, cuyo cultivo forma en el caldo copos y un depósito negruzcos. Una gota de este cultivo inyectado en el intestino delgado de cobayas las mata en doce ó dieciséis horas. Para Gibier, la enfermedad es producida por la absorción de substancias tóxicas, formadas en el intestino por bacterias.

MICROCOCCUS EN LA RABIA.—Pasteur y Gibier creyeron reconocer *micrococcus* móviles en la substancia cerebral de los animales muertos de la rabia.

Hermann Fol describió en médulas rábicas coloreadas por la hematoxilina por el método de Weigert, micrococos de 0'2 μ, á menudo asociados por pares, alojados en las lagunas de la neuroglia ó entre los cilindros axiales y su vaina. Sembrada la médula en caldo produjo un ligero enturbiamiento, que se depositó al cuarto día. El depósito, inoculado en animales sanos, les transmite en algunos casos solamente una verdadera rabia, pero de larga incubación.

Babés logró cultivar un *micrococcus* de 0'4 μ á 0'6 μ, que se desarrolla lentamente á 37° y forma sobre gelatina y sobre gelosa pequeñas manchas parduzcas, á lo largo de la estría de inoculación. Los cocos, unidos á menudo por pares, son difíciles de colorear. Inoculando en los animales cultivos puros de segunda y tercera generación, les ocasionan la rabia. Al lado de esos *micrococcus*, ha encontrado *bacillus* ligeramente encorvados, que medían de 2 μ á 3 μ de largo por 0'6 μ de ancho.

Más recientemente, Mottet y Protopopoff han aislado del cerebro y de la médula rábica, una bacteria en finos bastoncitos, á la cual consideran como específica.

Se la encuentra con abundancia en la serosidad turbia de los ventrículos del cerebro de los perros atacados de rabia común y de los perros inoculados. Si se cultiva en el caldo de carne cerca de 35°, éste ya se enturbia al final del segundo día. El líquido es regularmente turbio, sin copos; en tal estado permanece dos ó tres semanas, luego se forma un pequeño depósito y se aclara el líquido. Los cultivos en gelatina y gelosa nunca tienen éxito. Los conejos inoculados por trepanación con esos cultivos mueren en doce horas con los síntomas de la rabia paralítica; su médula transmite una rabia idéntica á los conejos sanos. La inoculación subcutánea ocasiona la muerte, de dos á seis días, con los mismos síntomas que la trepanación. Los perros inoculados por trepanación con la médula de esos conejos mueren en seis ó siete días de rabia paralítica. Pero son necesarios experimentos que confirmen más este aserto.

(1) Domingo Freire, *Investigaciones sobre la causa, la naturaleza y el tratamiento de la fiebre amarilla*. Rio Janeiro, 1880.

CAPÍTULO XII

ESPECIES CROMÓGENAS Y FERMENTOS

Micrococcus prodigiosus Ehrenberg. — Esta especie es frecuente en el aire; se la encuentra como impureza en los cultivos sobre placas. Se observa principalmente en las materias amiláceas ó clara de huevo cocida expuestas al aire. Las colonias, formadas en estos medios, aparecen como pequeñas manchas rosadas, que obscurecen rápidamente su color, el cual se convierte en rojo. Sobre la clara de huevo ó el almidón cocidos, sus bordes perfectamente marcados, su consistencia viscosa, les dan el aspecto de gotitas de aceite. Las células que los constituyen son, ora esféricas, ora ovales ó elípticas; miden de o'5 μ á 1 μ de diámetro mayor. Algunas las que están quizás próximas á dividirse, tienen la forma de cortos palitos. En cultivos sobre caldo muy líquido, presentan una gran movilidad; en medios sólidos, al contrario, parecen completamente inmóviles. La tendencia á dar cortos palitos es más marcada en ciertos cultivos; es posible también que esta especie deba separarse de las cocáceas y reunirse al género *bacillus*, si es que esas formas oblongas no deben considerarse como degeneraciones.

El *micrococcus prodigiosus* crece bastante bien en todos los medios nutritivos. En cultivo sobre placas da en veinticuatro horas, á 20°, pequeñas colonias redondas, granulosas, grisáceas, que llegando á la superficie, al poco tiempo se ostentan en un disco de color rosado en el centro. La colonia se hunde en la gelatina y se colorea de rojo, luego se rodea de un anillo de gelatina licuada. La liquefacción progresa rápidamente; al cabo de medio día toda la placa queda licuada. El líquido ofrece un tinte rosado. Si se deseca un poco la superficie de la capa de gelatina, la licuación se detiene, la colonia forma entonces un botón rojo obscuro situado al fondo de una ligera depresión.

Inoculado en picadura en un tubo de gelatina, la licua comúnmente con gran rapidez. La cúpula de licuación es completa en doce horas; ha aumentado mucho ál as veinticuatro extendiéndose por toda la longitud de la picadura. La gelatina licuada es turbia y en

la punta del embudo se encuentra una pequeña masa filamentosa roja sanguínea. La liquefacción continúa y al cabo de algunos días toda la jalea se ha vuelto líquida. Desde que se operó este cambio en cierta longitud, la parte licuada es muy turbia; en el fondo se encuentra un denso sedimento de color rojo obscuro, y en la superficie nadan á menudo copos del mismo color. El líquido se colorea de rosa rojo, en la parte superior al menos.

Inoculándolo en estría sobre gelosa, se obtienen anchas fajas mucosas, de color rosáceo, que se convierte en rojo sanguíneo al envejecer y ofrece á menudo reflejos metálicos. Si la jalea se deseca, la especie se desarrolla, al parecer, con menos abundancia; comúnmente no forma membrana plegada, pero si una capa viscosa y espesa, cuyas partes superiores en contacto con el aire, son las únicas que están muy coloreadas.

Sobre patata, la vegetación es abundante; da en veinticuatro horas, una capa blanca rosácea que crece y forma en poco tiempo una película mucosa, espesa, de color rojo sanguíneo, cuya superficie se obscurece considerablemente por la edad y puede también mostrar, en ciertos puntos, reflejos de un color verde metálico semejantes á los de la fucsina.

El suero es licuado poco á poco; antes, el cultivo toma los mismos caracteres que sobre gelosa.

Cultivado en leche, produce la coagulación lenta de la caseína, sin ocasionar otros cambios más profundos, ni aun después de largo tiempo; el coágulo puede disolverse según Hüppe. La leche en donde se desarrolla este *micrococcus* se colorea de rojo.

La mayor parte de los cultivos, principalmente los hechos sobre patatas, despiden un fuerte olor de trimetilamina. Esta especie resiste poco el calor; una temperatura de 60°-80° mata todos los elementos. Sin embargo soporta sin perecer una desecación bastante larga.

La particularidad más interesante del *micrococcus prodigiosus* es sin duda la producción de la materia colorante. Según Schottelius, la materia colorante se encuentra exclusivamente en el interior de las células y va impregnando uniformemente el protoplasma. Después de la muerte se difunde enderredor de la célula y forma granulaciones más ó menos grandes. Y sin embargo, se observa en gran número de cultivos, entre las células evidentemente vivas, masas de granulaciones de tamaño variable, ora menores, ora mayores que los *coccus*, de forma redonda ó irregular, y de color rojo de rubí, muy brillante. El pigmento sólo se forma en presencia de oxígeno; las colonias desarrolladas en las capas profundas de la gelatina ó bajo una capa de aceite permanecen blancas. La materia colorante es insoluble en el agua y soluble en el alcohol, donde da un licor rojo ligeramente amarillento. La solución presenta, al espectroscopio, dos fajas características, una en el verde y otra más delgada en el azul. Los ácicos la hacen pasar al carmín, luego al violeta; los alcalis la vuelven amarilla. En una serie de cultivos, la producción de pigmento disminuye, de tal suerte que después de cierto número de generaciones, no se obtienen más que cultivos rosáceos ó negruzcos.

Esta bacteria no parece tener propiedades patógenas, pues ni aun después de una inyección intravenosa de cantidades considerables en mamíferos, no se observa ningún desorden.

La especie contamina con frecuencia las substancias alimenticias. Se desarrolla muy bien en el pan en donde forma anchas manchas difusas, de un color rojo de sangre; se le ha visto invadir panaderías enteras; en París, en 1843, grandes provisiones de pan procedente de panaderías militares presentaban manchas rojas debidas á esta causa. Se les atribuye también el fenómeno antiguo de las hostias sangrientas. Prillieux señaló una alteración de los granos de trigo debida á una bacteria que es probablemente el *micrococcus prodigiosus*. Este parásito llega á destruir la mayor parte del grano; el ataque empieza por los granos de almidón; la materia azoada y la celulosa son consumidas en último lugar. La celulosa se gelifica antes de ser absorbida.

La coloración roja de ciertas secreciones debe, en varios casos, atribuirse al desarrollo de este *micrococcus*. Probablemente se le deben atribuir una parte de los fenómenos de

los sudores rojos, de la saliva roja, de la leche roja, todavía poco estudiados.

MICROCOCCUS FULVUS Cohn.—Los caracteres de esta especie no son todavía de suficiente precisión. Fué observada por Cohn en los excrementos de caballo y de conejo, en la superficie de los cuales formaba pequeñas gotas mucosas, combadas, de coloración rojiza, á menudo ligeramente rosácea. Al envejecer se extienden por la superficie del medio nutritivo, y llegan á formar una capa mucosa contínua.

Las células son casi regularmente esféricas, alcanzan 1'5 μ de diámetro y tienen, según Cohn, un núcleo refringente.

La materia colorante es insoluble en el agua; no se altera ni por los ácidos ni por los álcalis.

MICROCOCCUS ROSEUS Flügge.—Es muy frecuente en el aire, y se observa á menudo como impureza en la superficie de los cultivos sobre placas.

Le constituyen *coccus* unidos en pares ó en tetradas, á veces en cadenitas de tres elementos; son comúnmente asimétricos; las caras de unión de los elementos de una pareja, son perfectamente planas. Miden por término medio 1'4 μ de diámetro mayor.

Este *micrococcus* forma en la superficie de las placas de gelatina pequeños botones rosados, mamelonados con frecuencia en el centro. Las colonias se ensanchan lentamente, y alcanzan de 1 á 3 milímetros de ancho después de algunos días. El pezón central puede crecer al mismo tiempo y dar un pequeño prolongamiento digitiforme recto ó encorvado. La gelatina no es licuada.

Inoculado en estría sobre gelatina ó gelosa, da al cabo de algún tiempo una faja más ancha en la parte inferior, de un hermoso tinte rosado, con los colores transparentes blanquecinos, que á menudo dejan ver estrías concéntricas más claras. La superficie es lisa como si estuviese barnizada. La gelatina se reblandece ligeramente en sus capas superiores, y se licua á menudo con gran lentitud. El líquido ofrece un tinte rojizo, pero es mucho más encarnado con el *micrococcus prodigiosus*. El cultivo desarrolla un débil hedor fecaloide.

Es evidente que existen varias especies de caracteres muy parecidos, que actualmente se confunden bajo este nombre.

MICROCOCCUS CINNABAREUS Flügge.—También es esta una bacteria del aire, que contamina con frecuencia los cultivos.

Los *coccus* miden 0'9 μ de anchura; están comúnmente reunidos en diplococos, á veces en tetradas ó en pequeñas masas. Su forma es ovoidea irregular; uno de los lados, el que toca al otro elemento de la pareja, es plano.

Las colonias sobre placas son poco características. Consisten en pequeños botones de un color rojo bajo. No licuan la gelatina.

Inoculado en picadura en un tubo de gelatina, sólo se desarrolla bien en los puntos que están en contacto con el aire; forma en la superficie un botón plano, de un color rojo de ladrillo algo rosado, que se continúa en la gelatina por un corto tallo del mismo matíz; en el resto del trayecto de la picadura no se observa más que un desarrollo poco aparente de pequeñas colonias matizadas de amarillo rojizo, y redondeadas. Se observa la licuación de la jalea, después de un tiempo á veces muy largo; el líquido es turbio y deja depositar un sedimento del color rojo del ocre.

En estría sobre gelatina, y principalmente sobre gelosa, da una ancha colonia en forma de espátula, de un color rojo de ladrillo algo amarillento primero, luego matizado de rosa tierna, con bordes sinuosos y superficie verrugosa. La substancia de la colonia es blanda, poco coherente, se separa fácilmente y se disocia muy aprisa en un líquido.

Enturbia el caldo y produce en él un depósito de color rojo de ladrillo, muy coherente y viscoso; el líquido conserva cierta viscosidad.

Los cultivos desarrollan un olor insípido, dulce, pero de una dulzura desagradable.

MICROCOCCUSAURANTIACUS Schröter.—Forma en todos los medios nutritivos sólidos manchas circulares, poco prominentes, coloreadas de amarillo anaranjado. Es una de las especies más comunes en el aire; se observa diariamente en los cultivos sobre placas.

Las células son elípticas; la longitud de su diametro mayor es 1'5 μ, ligeramente móviles; están aisladas ó reunidas en pares ó de cuatro en cuatro; por regla general forman grandes

diplococos de elementos asimétricos. En los medios sólidos forma una capa amarilla bastante espesa, y en el caldo una tenue película del mismo matiz. Sobre patata da pequeños casquetes esféricos de color anaranjado obscuro. La materia colorante, según Schröter, es soluble en el agua.

Micrococcus luteus Schröter.—Se le encuentra á menudo en los medios nutritivos sólidos expuestos al aire. Forma, sobre pedazos de patata, pequeñas masas mucosas de color amarillo de limón, las cuales, desecándose un poco, dan una pequeña cúpula. No licua la gelatina y forma en la superficie del caldo una membrana espesa que se pliega al cabo de poco tiempo.

Los cocos con elípticos, muy refringentes y miden por término medio 1 μ.

La materia colorante es insoluble en el agua; los ácidos y los álcalis no tienen acción sobre ella.

Micrococcus ochroleucus Prove.—-Recientemente, Prove aisló esta especie de la orina, y la describió con algunos detalles.

Las células son esféricas, miden de 0'5 μ á 0'8 μ, están aisladas ó unidas en pares ó en diplococos, ó con más frecuencia en rosarios de 4, 8, 12 elementos. Los cocos aislados, lo diplococos y las cadenitas están animadas de un movimiento bastante rápido.

En picadura sobre gelatina, el cultivo se ostenta y da una delgada membrana cuyo centro se colorea de amarillo de azufre, mientras que los bordes permanecen blanquecinos. Después de un tiempo bastante largo, la gelatina se reblandece, se vuelve viscosa, toma una reacción muy alcalina y se colorea de amarillo claro. Los cultivos viejos exhalan un olor sulfuroso penetrante.

Sobre patata se desarrolla mal.

La leche muestra al cabo de cinco ó seis días una coloración amarilla en toda la superficie, más marcada en los puntos en que se amasa la nata.

La materia colorante es insoluble en el agua y soluble en el alcohol; la solución alcohólica es amarilla con un ligero tinte verdoso. En el examen espectroscópico se observa un ligero obscurecimiento después de la línea D, y otro todavía mayor en la línea F. Los álcalis no tienen acción sobre la solución coloreada. Los ácidos la descoloran; el color no reaparece ni por neutralización ni por un exceso de álcali.

Según Prove, en los cultivos mantenidos á 36°, se forman al cabo de unos seis días verdaderas esporas. Los cocos se hinchan hasta alcanzar un volumen doble; en el interior se forma un cuerpo refringente de 1'6 μ á 1,78 μ de largo, que tiene los caracteres de las esporas. Esos cultivos, entre otros caracteres, tienen el de fertilizar un nuevo medio después de habérseles sometido durante media hora á una temperatura de 100°.

Micrococcus flavus liquefaciens Flügge. —Se le observa con frecuencia en la superficie de los cultivos sobre placas, donde forma colonias amarillentas que se hunden en la gelatina. La gelatina se licua pronto alrededor de ellas, y la masa toma entonces un tinte completamente amarillo. Cuando la colonia ha alcanzado de 4 á 6 milímetros de diámetro, se distingue en ella una masa central opaca y una zona anular exterior formadas de masas de micrococos; el anillo está unido al centro por medio de tractos sueltos, de suerte que el todo recuerda bastante bien el aspecto de una rueda de coche.

Inoculado en picadura en un tubo de gelatina, se ve desarrollarse, al cabo de cuarenta y ocho horas, una colonia amarilla. La licuación se verifica rápidamente; el líquido es claro, y deja ver un espeso sedimento amarillo.

Los *coccus* son grandes; están reunidos en parejas ó en mayor número.

Micrococcus flavus desidens Flügge. — También ésta es una especie del aire, cuyos elementos esféricos, bastante pequeños, están dispuestos en diplococos ó en cortas cadenitas.

En los cultivos sobre placas, las colonias que se desarrollan en la superficie son redondas con bordes sinuosos, de una coloración amarilla ligeramente parduzca; pueden alcanzar un centímetro de diámetro. La gelatina no se licua propiamente hablando, pero se reblandece, y al mismo tiempo la colonia se hunde en el substrato, mostrando en derredor de ella un círculo de depresión, bastante ancho.

En picadura en la gelatina se obtiene en la superficie una membrana amarilla, pegajosa, y, en el canal, una masa blanquecina. La gelatina se reblandece, luego se licua lentamente; la colonia cae al fondo formando un sedimento amarillo.

MICROCOCCUS FLAVUS TARDIGRADUS Flügge.—Se observa en las mismas condiciones que los precedentes, pero más raramente.

Forma, en la superficie de las placas de gelatina, colonias redondas de $^1/_4$ á 1 milímetro de diámetro, de un color amarillo de cromo obscuro, con superficie lisa, barnizada, ligeramente convexa sobre la gelatina. La gelatina no sufre ninguna licuación.

Inoculado en picadura sobre gelatina, se desarrolla en largo tiempo y sólo da algunas pequeñas colonias amarillas globulosas.

Las células son esféricas, de un diámetro bastante grueso, aisladas ó formando pequeñas masas.

MICROCOCCUS DIFFLUENS Schröter.—Esta especie ha sido aislada del polvo y de los excrementos; debe ser común en el aire.

Las células elípticas miden cerca de 1'5 μ de largo por 1 μ de ancho. Forman en los medios sólidos masas mucosas de un blanco sucio ligeramente amarillento. Esta bacteria no licua la gelatina; inoculada en estría, forma á cada lado prolongaciones de apariencia foliácea. La jalea de en derredor está coloreada de amarillo con una fluorescencia verdosa. El pigmento es soluble en el agua; los ácidos lo decoloran; los álcalis no lo modifican. Quizás deba relacionarse al *bacillus fluorescens putidus*.

MICROCOCCUS VERSICOLOR Flügge.—Es una bacteria del aire, que contamina á menudo los cultivos sobre placas. Entonces forma, en la superficie de la gelatina, una capa viscosa amarillo verdosa, de reflejos nacarados; pueden alcanzar hasta 1 milímetro de diámetro, de forma cuadrangular irregular, con bordes sinuosos. El centro á menudo sobresale.

En picadura, este *micrococcus* da á la superficie una película amarillenta ó nacarada, de bordes irregulares. La gelatina no es licuada.

Las células son redondas, de diámetro bastante pequeño. Están dispuestas en diplococos ó en pequeñas masas.

MICROCOCCUS CYANEUS Schröter.—Se le ha encontrado sobre patatas cocidas expuestas al aire. En ella forma una delgada película de color azul de cobalto. La materia colorante penetra en el substrato y le comunica su matiz; es soluble en el agua, varía hasta el rojo carmín cuando se la trata por los ácidos, y le vuelven al color azul los álcalis.

MICROCOCCUS PSEUDO-CYANEUS Cohn.—Esta especie crece, como la precedente, sobre patata cocida, y en las soluciones minerales. Produce un pigmento, primero verde gris, que puede guardar este tinte ó convertirse en azul verdoso ó azul. Tratado por los ácidos, se vuelve rojo, y vuelve al color primitivo por medio de los álcalis.

Los caracteres morfológicos de esta especie, como los de la precedente, no son bastante conocidos.

Especies fermentos, ó de acción indiferente.

MICROCOCCUS UREÆ Van Tieghem.—Pasteur señaló su presencia en la orina en 1862, y le atribuyó desde este momento la fermentación amoniacal de este líquido. Van Tieghem precisó más tarde sus condiciones de desarrollo.

Las células son esféricas, miden de 1 μ á 1'5 μ de diámetro, están á menudo unidas en diplococos y en tetradas, ó con más frecuencia en largas cadenas sinuosas. Cultivada esta especie en orina esterilizada y neutralizada, se desarrolla rápidamente; el líquido es muy pronto invadido por los rosarios, si bien conserva su transparencia. Se forma al fondo un depósito blanquecino, que aumenta á medida que la fermentación se concluye; este depósito está formado de células libres, ó reunidas en pequeño número, de cristales de uratos y de fosfato amónico-magnésico. Al cabo de poco tiempo, un día ó dos, toda la urea ha desaparecido, transformada en carbonato de amoníaco que se desprende ó permanece disuelto en el líquido. En lugar de orina se puede emplear una solución de urea obtenida, pura de gérmenes extraños, como ya se ha indicado en otro lugar. Entonces se pueden obtener grandes proporciones de carbonato de amoníaco sin que perezca la bacteria, y así Van Tieghem vió formarse hasta un 13 por

ciento del líquido, el cual era entonces absolutamente impropio al desarrollo de las otras especies que acompañan casi siempre al *micrococcus ureæ*. Esta acción se verifica rápidamente en el vacío, y también bajo una presión de tres atmósferas; el desdoblamiento se verifica con el aire, el oxígeno, el nitrógeno, el hidrógeno, el ácido carbónico, el protóxido de nitrógeno. Esta fermentación amoniacal la urea se debe á una diastasa que aisló Musculus y que Pasteur y Joubert demostraron que segregaba la bacteria. La fermentación va mejor cuando existen materias albuminoideas en la orina, cuando se añade, por ejemplo, un poco de caldo ó que se emplea orina de cistitis rica en mucus. Según el excelente trabajo de Guiard, la transformación amoniacal de la orina en la vejiga exige, para ser durable y convertirse en fenómeno patológico, el concurso simultáneo de dos factores: las bacterias y la cistitis.

Cultivado sobre gelatina, el *micrococcus ureæ* da colonias homogéneas, poco prominentes que se ostentan en disco plano de color blanco brillante, semejantes á gotitas de estearina caídas sobre la jalea. Los cultivos viejos despiden un olor insípido que recuerda al engrudo de almidón.

Esta especie está muy esparcida; basta exponer al aire por algún tiempo un matráz lleno de orina esterilizada y neutralizada, para que se tengan grandes probabilidades de verla desarrollarse en ella, sola ó acompañada de otras. No es, por lo demás, la única bacteria que puede provocar el desdoblamiento de la urea en carbonato amónico; hay otras que lo operan tan bien como ella; entre otras, el *bacillus ureæ*, aislado por Miquel del agua de albañal, y según Leube, una *sarcina* mal determinada hasta ahora.

Micrococcus nitrificans Van Tieghem.—Los caracteres morfológicos de esta especie no han sido perfectamente indicados hasta aquí. Son pequeñas bacterias esféricas que Schlœsing y Müntz aislaron de la tierra vegetal donde abundan. Son frecuentes en el agua de albañal y muy raros en las aguas corrientes; el aire y el polvo recogidos encima del suelo, nunca encierran ninguna.

La forma de las células varía entre límites muy apartados; son ora redondas, ora, y esto es lo más frecuente, ovales ó tienen forma de cortos palitos. Por lo tanto es muy lógico seguir la opinión de Duclaux, que cree que la denominación de *micrococcus nitrificans* comprende varias especies distintas. El empleo de los métodos actualmente conocidos quizás permitiría aislarlos.

La especie es aerobia, pero se contenta con muy pequeñas cantidades de oxígeno. Su propiedad más interesante es la producción de ácido nítrico á expensas de las sales amoniacales que tiene á su disposición. El fenómeno de nitrificación está entre ciertos límites en relación directa con la temperatura. La acción química es nula á una temperatura inferior á 5°, no es bien apreciable hasta los 12°, presenta un máximo á 37°, luego decrece y se extingue cerca de 50°–55°. Una temperatura de 100° sostenida algunos minutos, destruye toda vitalidad y toda acción química.

Cuando las condiciones de temperatura ó de aereación son insuficientes, ó cuando el fermento envejece, se producen nitritos en vez de nitratos.

En el suelo, la acción de esta especie está íntimamente liada á la de los fermentos de las materias nitrogenadas, y en particular de la especie precedente, el *micrococccus ureæ*. El último término de la transformación de las substancias nitrogenadas, es el carbonato amónico, que no es asimilable por las plantas. Y si se convierte en asimilable, es á causa de su transformación en nitratos alcalinos por las bacterias del suelo, y así entra en la circulación vital. Se puede, pues, concebir el importante papel que desempeña esta especie en la nutrición de la planta y explicarse las curiosas observaciones de Duclaux, respecto á la germinación en un suelo privado de bacterias que les preparan sus alimentos bajo una forma muy asimilable, directamente ó por medio de sus poderosas diastasas.

El fenómeno de la nitrificación probablemente no debe ser propio de una sola especie, sino pertenecer en común á varias.

Micrococcus oblongus Boutroux.—Boutroux aisló esta especie de la cerveza. Las células miden de 1 á 2 μ de diámetro, según la edad; las viejas son más pequeñas. Están ais-

ladas, ó reunidas en pequeñas parejas ó en gran número, ó en rosarios largos y flexuosos. Se forman en los cultivos adelantados largos filamentos que, transportados á otro medio nutritivo, se segmentarían enseguida en *micrococcus*.

El medio más favorable es una solución de glucosa, adicionándole pequeñas cantidades de tartrato amónico y de fosfato sódico. Algunas horas después de la siembra, el líquido se recubre de un velo muy ligero que, al cabo de veinticuatro horas, se vuelve blanco, aterciopelado, y después de dos días permite coger en el líquido largos filamentos. Este velo se rompe con gran facilidad; la especie es aerobia; su modo de vegetación basta para demostrarlo. El líquido se vuelve rápidamente ácido, y por eso, si se quiere observar un desarrollo abundante, se debe añadir creta al fondo del vaso, á fin de que neutralice el ácido producido. Al cabo de tres ó cuatro días se desprenden bajo el velo algunas burbujas de ácido carbónico. El desprendimiento gaseoso se detiene al décimooctavo ó vigésimo día. En el día vigésimo quinto próximamente, se distingue sobre la creta una delgada capa de cristales que aumenta rápidamente. Están formados por la sal de cal de un ácido identificado por Boutroux, con el ácido glucónico; lo que ha hecho que se diese á este modo especial de transformación de la glucosa, bajo la influencia de esta bacteria, el nombre de *fermentación glucósica*.

MICROCOCCUS VISCOSUS Pasteur.--Pasteur ha demostrado que esta especie era la causa de una alteración especial del vino y de la cerveza, conocida con el nombre de ahilamiento. El líquido contaminado se enturbia, luego toma, al cabo de algún tiempo, una consistencia viscosa; puede ahilarse como la clara de huevo.

El *micrococcus*, causa de la enfermedad, tiene elementos esféricos de 1 μ de diámetro por término medio, si bien varía mucho. Esos cocos rara vez están aislados; á veces están reunidos en pares, pero más á menudo en largas cadenas flexibles (fig. 108). Segrega una goma particular que Béchamp llama *viscosa*; ella es la que da al líquido en que vegeta la especie, su consistencia especial. Se cultiva muy bien en las soluciones de azúcar de caña, á las cuales vuelve muy viscosas, hasta cuando sólo encierran débiles proporciones, 1 por 100, de azúcar. El azúcar de caña sólo puede sufrir la fermentación viscosa; en las mismas circunstancias, el azúcar invertivo, la glucosa, la maltosa, no producen viscosa, pero pueden dar mannita.

El líquido de cultivo, solución azucarada, vino, cerveza ó cidra, despide un olor insípido.

Cierto número de otras especies tienen también la propiedad de volver viscosos los líquidos en que se los cultiva. Es muy probable que la deban también á la producción del mismo principio gomoso. No es posible todavía precisar las relaciones que guardan con la cuestión, puesto que las particularidades de los cultivos no son lo bastante conocidas. El *bacillus mesentericus vulgatus* vuelve muy viscosa la leche en que se la cultiva.

MICROCOCCUS AQUATILIS Meade Bolton.—Meade Bolton describió bajo este nombre una especie que aisló de las aguas potables y de la cual sólo da los caracteres de los cultivos sobre placas. Con un mediano aumento, las colonias jóvenes que se encuentran en el espesor de la gelatina son redondas, con un contorno dentado y una apariencia muriforme; tienen una coloración amarilla brillante. Se extienden, desde que empiezan á emerger, en la superficie. A simple vista forman entonces manchas circulares planas de un blanco de porcelana. Al microscopio se les distinguen contornos perfectos, una zona marginal delgada homogénea, y una parte central de un aspecto completamente particular. Del centro más obscuro parten irradiando un sistema de surcos que dividen esta parte en pequeños islotes rómbicos; el aspecto de la figura recuerda el esquema ya conocido del acino del hígado.

Según Bolton, el *micrococcus aquatilis* es una de las especies más comunes en el agua. Vegeta con gran facilidad en este líquido, y se multiplica también con abundancia en agua destilada.

MICROCOCCUS VITICULOSUS Flügge.—Esta especie, de desarrollo bastante característico, sólo ha sido observada una vez como impure-

za en un cultivo, siendo muy probable que procedía del aire.

Le constituyen *micrococcus* ligeramente ovales, que miden 1'2 μ de largo por 1 μ de ancho; se les encuentra comúnmente reunidos en grandes masas. En cultivo sobre placas, las colonias que se desarrollan en la masa de gelatina se resuelven muy pronto en un sistema de finos tractos arrollados como zarcillos, formando una ancha red de finas mallas. De esta particularidad procede el nombre atribuído á la especie *vitícula* (planta trepadora). Al microscopio se apercibe que estas prolongaciones están constituídas por pequeñas colonias redondas, dispuestas en filas. Las colonias que se desarrollan en la superficie, forman una película delgada, blanquecina y mucosa. Los filamentos de las colonias profundas, que llegan á la superficie, se ostentan allí tomando el mismo aspecto.

En picadura ó en estría, sobre gelatina, se observa un desarrollo análogo; se encuentran filamentos en la jalea, é igual revestimiento en la superficie. No produce licuación.

MICROCOCCUS CANDICANS Flügge.—Es muy frecuente en los cultivos sobre placas, y abundante en el aire y en el agua.

Las células son grandes, regularmente esféricas, reunidas en masas irregulares. En cultivo sobre placas, se obtienen, en la superficie, discos bastante anchos, planos, de un color blanco brillante, semejantes á gotitas de cera, con contornos sinuosos. En picadura se desarrolla un trazo blanco en el canal, y un botón prominente en la superficie. La gelatina nunca es licuada.

CAPÍTULO XIII

COCÁCEAS.—GÉNEROS «SARCINA, LEUCONOSTOC Y ASCOCOCCUS».

§ I

Genero sarcina

Este género, que fué creado por Goodsir para la *sarcina ventriculi,* encierra bacterias comúnmente estéricas, á veces ovoideas, las cuales, á causa de las divisiones que se operan sucesivamente en tres planos diferentes perpendiculares entre sí, forman colonias macizas, cúbicas, que parecen paquetes de caras cuadradas ó rectangulares. Los huecos que existen entre cada uno de los elementos en las caras y los lados de estas masas aumentan todavía la semejanza, simulando toscamente las impresiones de los lazos que han servido para atar los paquetes. El proceso de la división que de una célula forma una colonia maciza, es todavía poco conocido. Según Hauser, los fenómenos se verifican del modo siguiente: Una célula próxima á dividirse se parte en dos iguales formando así una especie de diplococo; cada uno de los dos elementos de la pareja se divide entonces á su vez según su longitud; se obtiene así una tetrada cuyos cuatro elementos se parten á su vez por un solo plano, que divide en dos la placa que constituyen por su reunión; así es como se forma la masa cúbica más sencilla, constituída por ocho células. Después creciendo, los elementos del tubo se multiplican de un modo semejante y dan masas más y más considerables. Las células rara vez están aisladas; generalmente están unidas por una materia pegajosa bastante sólida. Sin embargo, en ciertas condiciones, que al parecer dependen principalmente del medio en que vive la especie, presentan gran tendencia á separarse después de la división. Los paquetes cúbicos ya no existen; las tetradas son raras; no se observan más que los cocos aislados entre sí ó unidos por pares en diplococos. Si no fuesen los conmemorativos que conducen á la forma típica precedente, en nada se distinguirían esas *sarcinas* de *micrococcus*. A veces no obstante, un simple cambio de medio nutritivo puede hacer reaparecer la forma normal. La *sarcina ventriculi,* observada en los vómitos ó en el contenido estomacal, presenta paquetes bastante grandes, formados de gran número de células, 16, 32 ó 64 por ejemplo. Cultivada en medios sólidos, sólo forma diploco-

cos y muy pocas tetradas. Una partícula de este último cultivo, transportada en caldo á la estufa, dá rápidamente en la superficie del medio nutritivo una película escamosa, pardusca, de cuya parte inferior se desprenden los copos pardos que nadan en el líquido; la película y los copos contienen de esas masas de forma característica, tanto mayores cuanto más adelantado está el cultivo. Por lo demás puede suceder lo contrario. Hay colonias que sólo contienen células redondas aisladas y que son consideradas como cultivos de *micrococcus* y clasificadas como tales; la forma de *sarcina* no aparece sino más tarde, en cultivos obtenidos con los primeros.

Durante mucho tiempo la división fué considerada como el único medio de reproducción de las especies de este género. Recientemente Hauser, en su memoria precitada, ha descrito con todas las apariencias de verosimilitud, la formación de los esporos en una *sarcina,* que obtuvo de los esputos de un tísico. Algunas células aisladas aumentan de volumen; su protoplasma celular se vuelve turbio. La parte central, que es la más considerable de este contenido, se contrae y adquiere su mayor refringencia, mientras que se forma en su periferia una especie de membrana obscura. Así se forma, al cabo de poco tiempo, un corpúsculo redondeado, brillante, muy refringente, con un diámetro de o'6 μ á o'8 μ; la membrana de la célula madre se vuelve difluente y puede disociarse poniendo este esporo en libertad. Esos esporos se forman principalmente en las tetradas y en los paquetes cúbicos; entonces los hay, ya en todas las células de unas masas, ya únicamente en una parte, á veces en distinto grado de desarrollo. Los corpúsculos tienen los caracteres comunes de esporos de bacterias. Resisten al calor mucho más que las células vegetativas; cultivos que los contenían, puestos á 110° en vapor de agua todavía han podido ser fértiles. La doble coloración se obtiene con ellas, pero es necesario pasar la lámina hasta treinta y cuarenta veces por la llama para permitir que penetre la materia colorante. Entonces se obtiene con la doble coloración á la fucsina y al azul de metileno, esporos coloreados de rojo rosáceo y los despojos de las células madres que les rodean matizados de azul pálido.

Varios observadores atribuyen á la membrana celular de las *sarcinas* la propiedad de ponerse azul por el ácido sulfúrico y el yodo ó por el cloroyoduro de zinc, lo que indicaría que esta parte estaba formada de substancia celulósica.

Hasta ahora no se conoce más que un pequeño número de especies del género *sarcina;* algunas formas que habitan en las aguas dulces y que habían sido descritas como tales, son algas pertenecientes al género *merismopedia* ó á géneros cercanos.

SARCINA VENTRICULI Goodsir.—Esta especie es frecuente en el contenido estomacal del hombre y de los animales; se le observa especialmente en los vómitos; abunda comúnmente cuando la fermentación de los productos acumulados en el estómago se ve favorecida por su estancación, ocasionada por un estado de sufrimiento del órgano. Fué descubierta por Goodsir y estudiada poco después por Lebert y Robin. A veces se encuentra en cantidad considerable en el contenido estomacal; Richter señaló un caso de obstrucción completa del píloro seguida de la muerte que él atribuyó á las masas de sarcinas. Virchow asegura haberla observado en un abceso gangrenoso del pulmón; después se encontraron varias veces en este órgano, otras sarcinas que difieren mucho de la *sarcina ventriculi.* Bonnet y Hasse la encontraron en deposiciones de enfermos, Heller en el mucus de diarrea. Las sarcinas que son frecuentes en el estómago del conejo y de los monos, es muy probable que sean idénticas á la especie del hombre. Falkenheim describió los principales caracteres de cultivo de esta especie y permitió así diferenciarla fácilmente de las especies parecidas.

Tales como se observan en el contenido estomacal, las células de la *sarcina del estómago* son redondas ó ligeramente ovales, incoloras ó con un débil tinte amarillo. Miden cerca de 2'5 μ de largo y la mayor parte del tiempo están unidas en pequeñas masas cúbicas, de ángulos redondeados (fig. 108) formadas de un número más ó menos considerable de células, siempre múltiple de cuatro á causa de su modo

especial de división, 8, 16, 32, 64. Robin da como dimensión de las mayores masas 55 μ de longitud y 20 μ de anchura. Esas masas tienen una consistencia coriácea elástica. Tienen, en los vómitos, un ligero color pardo, son muy transparentes y poco refringentes; bajo una fuerte presión ó haciendo actuar álcalis concentrados, los paquetes se disgregan primero en masas más pequeñas, luego en elementos simples.

Los cultivos prosperan en todos los medios empleados, se desarrollan mejor en los medios neutros que en los que son ligeramente ácidos.

Sobre placas de gelatina, al cabo de treintiséis á cuarentiocho horas, se forman pequeñas colonias redondas poco prominentes, de color amarillo, cuyo crecimiento se detiene después de poco tiempo. En el examen microscópico, se encuentran cocos esféricos, incoloros, de 1'5 μ de diámetro, unidos la mayor parte del tiempo en diplococos y á veces en tetradas, pero sin constituir nunca los paquetes cúbicos característicos. Estas colonias no licuan la gelatina.

En picadura ó en estría en un tubo de gelatina, el cultivo se extiende rápidamente y cubre toda la superficie libre de la jalea. Si antes de sembrarla se colorea la gelatina con algunas gotas de tintura azul de tornasol, se vuelve completamente roja en cuarentiocho horas. Por consiguiente se produce un ácido.

Sobre patata, se desarrollan en veinticuatro, á lo largo de la estría de inoculación, pequeñas colonias redondas, incoloras, que luego se vuelven amarillas; alcanzan un milímetro de ancho y son entonces de color amarillo de cromo.

Sobre suero, esta especie da pequeñas colonias redondas, blancas ó débilmente amarillentas; el suero permanece sólido.

En ninguno de esos cultivos se obtiene la disposición de las células en paquetes, tan especial á las especies del genero *sarcina;* según Falkenheim, se le observa siempre cultivando en una infusión de heno, esta sarcina, tomada indistintamente en el contenido estomacal ó en uno de los cultivos precedentes. Se forma en la superficie de este medio, en veinticuatro horas, una tenue película, parda, seca, escamosa, y al fondo del vaso del cultivo un depósito filamentoso pardo. En la película y el depósito, se encuentran numerosos paquetes de sarcinas. El desarrollo se verifica mejor si se añade á la infusión de heno un 2 ó 3 por 100 de de glucosa.

No se tiene ningún dato experimental respecto á la acción de la *sarcina del estómago* sobre el organismo.

SARCINA LUTEA Schröter.—Es una bacteria del aire que contamina á menudo los cultivos sobre placas. En ellos forma en la superficie de la gelatina, pequeñas colonias discoides, amarillas. Esas colonias crecen con lentitud; al cabo de ocho días dan pequeños montículos hemisféricos ó un poco aplanados, con bordes rectos y ligeramente sinuosos, de un color amarillo de limón ligeramente verdoso, los cuales se hunden poco á poco en la gelatina; no se produce licuación perfecta, pero el el cultivo se encuentra en el fondo de una depresión muy marcada.

En picadura sobre gelatina, se forma en la superficie una masa de color amarillo de canario claro que cubre la parte libre. La jalea es licuada con lentitud; la colonia cae al fondo, bajo la forma de un depósito amarillo y el líquido permanece completamente claro.

Sobre gelosa, el desarrollo es más rápido, principalmente en la estufa; produce una ancha faja amarillo clara, con superficie lisa y brillante, de consistencia caseosa. El cultivo sobre patata tiene el mismo aspecto, pero es mucho más lento.

En todos esos cultivos, la forma en paquetes ha desaparecido; las células son libres ó están reunidas en diplococos y presentan un movimiento bastante vivo.

Esta especie fué señalada sobre la piel del hombre; ésta es probablemente la que Bordoni aisló. Su presencia en este punto no es de extrañar, vista su gran diseminación en el aire.

SARCINA AURANTIACA Koch.—Es también una especie muy común en el aire. Se observa muy á menudo en los cultivos sobre placas. Las colonias que en en ellos produce, son pequeños discos de color amarillo anaranjado bajo, que crecen rápidamente en anchura y dan una especie de película firme, resistente,

que se eleva en masa y ofrece una coloración amarilla de ocre, con bordes levantados y alabeados. Esta colonia se hunde poco á poco en la gelatina, á la que licua lentamente; flota en la superficie de la parte licuada. Estos cultivos pueden alcanzar una anchura bastante grande, ½ á 1 centímetro.

En picadura sobre gelatina, crece lentamente licuando el medio. El líquido es claro y está cubierto de una película de color amarillo claro.

Sobre gelosa, se desarrolla á lo largo de la estría una ancha colonia membranosa, plegada, de color amarillo de ocre.

El crecimiento sobre patata es lento y se limita á la estría de inoculación que recubre de una delgada faja de color amarillo de oro.

Las colonias de los cultivos sobre placas están á menudo formadas de grandes *coccus* de 2 μ de longitud, aislados ó en diplococos; sus masas cúbicas son raras. Se observan por el contrario en los cultivos sobre los medios sólidos.

Sarcina pulmonum Hauser.—Muchos observadores señalaron la presencia de sarcinas en los productos de espectoraciones patológicas, ó en el mismo tejido del pulmón. Virchow las encontró en la gangrena pulmonar, Bamberger en los esputos fétidos de una dilatación de los bronquios, Friedreich en un infarto hemorrágico del pulmón, Cohnheim en casos de tubercolosis crónica, Heimer y Nauwerck en cavernas; Fischer las encontró con abundancia en varias afecciones del pulmón y de la boca. Y sin embargo, ninguno de estos autores había tratado de diferenciarlas de la *sarcina ventriculi;* todos creían tratar de esa especie. Hauser, más recientemente, ha podido aislar una sarcina de los esputos de un un tísico y convencerse por un estudio concienzudo que era específicamente distinta de la *sarcina del estómago*. Ha dado detalles muy interesantes respecto estos cultivos, que se obtienen muy fácilmente en los medios habituales.

En cultivos sobre placas, se ven formarse, al cabo de tres días pequeños puntos blanquecinos en la gelatina; su crecimiento es largo, casi no se ensanchan hasta haber alcanzado la superficie. Forman allí pequeñas colonias ovales, muy convexas, coloreadas de pardo claro miradas por transmisión. Con un aumento mayor estas colonias parecen formadas de grandes granos que, principalmente en la periferia, están dispuestos en círculos concéntricos.

En picadura en un tubo de gelatina, el cultivo es bien aparente á las veinticuatro horas. Produce en poco tiempo en la superficie una pequeña colonia redonda y gris-perlina, ue aumentando toma los bordes sinuosos y un brillo húmedo, algo lustroso. En el canal de la picadura se observan pequeñas colonias puntiformes. La gelatina nunca es licuada.

Sobre patata el desarrollo es poco abundante; en ella se forma un cultivo pardo, poco extenso. Lo mismo sucede con el caldo, en donde se produce un pequeño depósito grisáceo, algo viscoso; el líquido no se enturbia ni ofrece ningún velo en la superficie.

En las colonias jóvenes se encuentran diplococos, tetradas y pequeños cubos constituídos por ocho células. En las colonias más desarrolladas se encuentran dieciséis y treintidós. Las células miden de 1 μ á 1' 5 μ. Según Hauser, su división se opera del modo siguiente: Una célula dividiéndose en dos da un diplococo, cuyos elementos dividiéndose en sentido de la longitud del par producirían una tetrada; la tetrada forma un tubo pequeño á causa de la división por un mismo plano de sus cuatro elementos. Estas células, aisladas ó unidas, no manifiestan motilidad alguna. En los elementos aislados ó aglomerados, nacen verdaderos esporos endógenos. Estos esporos resisten una gran temperatura; habiendo puesto á 110°, cultivos que los contenían, se mostraron fértiles.

Esta especie no parece tener ninguna propiedad patógena; administrada con los alimentos á conejos, no les ocasionaron ningún desorden; existían, no obstante, tetradas de esporos vivos en las deposiciones; en el estómago no las había. Descompone enérgicamente la urea, como otra sarcina muy poco conocida que Leube aisló de la orina.

Sarcina aurea.—Esta hermosa especie fué aislada, en el laboratorio de Macé, de la exudación del pulmón, recogido en la autopsia,

con las requeridas precauciones, en un individuo muerto de una pneumonía bastarda complicada de pleuresia purulenta.

En picadura sobre gelatina, los cultivos se desarrollan muy aprisa; la liquefacción empieza al segundo día; el tubo está completamente licuado del sexto al octavo día. Encima del líquido completamente claro, se forma una película espesa, de un hermoso color amarillo de oro, es muy fragil; en el fondo se forma un depósito blanquecino poco abundante. La película se rompe en pedazos irregulares á la menor agitación y cae al fondo del vaso. La licuación se vuelve más lenta, á medida que los cultivos envejecen; en quinto cultivo, casi no aparece hasta el sexto día.

Sobre gelosa, cerca 35°, se produce una faja ancha y espesa, de superficie verrugosa, coloreada de amarillo de oro brillante. Después de algunas generaciones, el tinte palidece y se vuelve amarillo pálido.

La patata es un medio de cultivo muy apropósito para esta especie; inoculando la superficie con varias estrías, se obtienen en ella espesas fajas de un tinte amarillo de oro brillante, con la superficie más lisa que la de los cultivos sobre gelosa. En los cultivos viejos, el centro toma una coloración amarilla clara.

El cultivo en caldo es muy particular. Se forma en el fondo del vaso un depósito de color amarillo de oro, de coloración más clara que la de los cultivos en medios sólidos, muy coherente, completamente adherible al vaso, se eleva á un centímetro del fondo en las paredes del vaso y presentan su borde superior libre y regularmente festoneado. El líquido no se enturbia ni muestra ningún velo.

Todos estos cultivos encierran la especie, dispuesta en paquetes característicos de grandor variable. Estas masas cúbicas están formadas de elementos algo ovoideos, que miden de 1 μ á 1'1 μ de largo, que se pueden encontrar también, pero raras veces, aislados, en diplococos ó en tetradas. Estos elementos aislados ó unidos en masa, tienen un movimiento oscilatorio muy vivo. Algunos dan, con el ácido sulfúrico y el yodo, una coloración azul violeta, que indica en ellos la presencia de materia amilácea ó celulósica. El pigmento es soluble en el alcohol absoluto y da un licor de un hermoso color amarillo de oro.

Sarcina intestinalis Zopf.—Zopf la encontró en el intestino de pollos y de pavos, principalmente en el cæcum. Forma tablitas cuadradas ó rectangulares, ó en pequeños cubos de ocho elementos, pero nunca en grandes paquetes.

Sarcina rosea Schröter.—Encontrada en los pantanos, entre las algas. Son células esféricas, que tienen hasta 2 μ de diámetro, unidas en pequeños paquetes cúbicos, redondeados en los ángulos, que pueden medir 8 μ de largo.

Sarcina paludosa Schröter.—Según Schröter, es frecuente en las aguas de desecho de las fábricas de azúcar.

Los elementos son esféricos, incoloros, muy refringentes, miden hasta 2 μ de diámetro. Están reunidas en familias mayores y menos regulares que las de la *sarcina del estómago*, y presentan aristas y los ángulos de separación las células más redondeados.

§ 2

Genero leuconostoc

Las células redondas, incoloras, muy pequeñas están unidas en rosarios flexuosos, rodeados de una espesa vaina de jalea, de consistencia firme, cartilagínea. Esas vainas forman, al pegarse en cierto número, masas irregulares, lobuladas, que presentan circunluciones en la superficie y adquieren la dureza del cartílago. En los rosarios se forman esporos, procedentes de la transformación directa de ciertas células, que se vuelven mayores y toman una membrana más espesa y un contenido más refringente. Estos esporos es-

tán separados entre sí; se encuentran comprendidos en el rosario ó en sus extremos.

Este género sólo encierra la especie siguiente:

LEUCONOSTOC MESENTEROIDES Cienkowsky. —Las zoogleas de esta especie forman masas gelatinosas, que miden del tamaño de una avellana al del puño, con superficie mamelonada, de consistencia firme y elástica. Se les observa frecuentemente en los lugares en que se elabora el azúcar, sobre los aparatos que sirven para la obtención de los jugos azucarados de las remolachas y, aunque más raramente, en los jarabes cocidos. A su apariencia y á su consistencia se debe que le den en Francia el nombre vulgar de *gomme de sucrerie* (goma de azucarero), y en Alemania el de *Froschlaich* (freza de rana).

El desarrollo fué estudiado simultáneamente por Cienkowsky y, mucho más completamente, por Van Tieghem.

Las células vegetativas son esféricas, miden de 0'8 μ á 1'2 μ; las que están próximas á dividirse son más largas y de forma oval ó en cortos bastoncitos de extremos redondeados. Las células (fig. 23, 4, 5, 6, 7) están reunidas en número variable, en rosarios cuyos granos permanecen separados por una corta distancia mientras el desarrollo es activo; cuando el desarrollo ha concluído, los granos se tocan y son entonces todos regularmente esféricos (figura 23, 8). Cada uno de estos rosarios está rodeado de una vaina gelatinosa, que mide de 6 μ á 20 μ, cerca de seis á veinte veces el diámetro de un grano. Esas vainas gelatinosas se encorvan y apelotonan, apretándose entre sí (fig. 23, 6, 7) y dan un tubérculo blanquecino, transparente, compacto, con superficie mamelonada, vermiculada. Este tubérculo crece y toma una consistencia bastante firme para que en él se puedan dar fácilmente cortes con la navaja de afeitar. En efecto, de la presión que los tubos gelatinosos ejercen entre sí, la masa interna toma el aspecto de un pseudo-parenquima (fig. 23, 8).

Cuando el líquido nutritivo está agotado, la zooglea cesa de crecer y empieza á deteriorarse. En este momento se forman los esporos. Algunas células de los rasarios (fig. 23, 9) aumentan, conservándose esféricas, toman una densa membrana y un contenido muy refringente. Son verdaderos esporos durables, que miden de 1'8 μ á 2 μ. Estos esporos pueden encontrarse en los extremos de los rosarios ó estar intercalados entre las otras células; están siempre separados entre sí por cierto número de células vegetativas. Continúan actuando las condiciones perjudiciales, la masa gelatinosa se disocia y los diversos elementos de los rosarios son puestos en libertad en el líquido. A menudo las células vegetativas no encuentran las condiciones de vida que les son convenientes y mueren; los esporos resisten á las causas diversas de destrucción y guardan por mucho tiempo su potencia germinativa. Si se transporta el esporo á un nuevo medio nutritivo, germina inmediatamente. La capa externa dura de la membrana se rompe, la capa media se hincha mucho y forma una espesa envoltura de jalea enrededor de la capa interna, delgada y transparente, que rodea al protoplasma central (fig. 23, 1, 2). Este *coccus* se alarga, da un corto bastoncito que se estrangula en su parte media y se parte luego en dos elementos (fig. 23, 3). Este es el principio de los rosarios que conocemos.

En jugos azucarados, la vegetación puede ser extremadamente rápida, si se encuentran reunidas condiciones favorables de temperatura y aeración. Según Durin, 50 hectolitros de disolución de melazas con un 10 por 100 de azúcar se transformaron en una masa gelatinosa compacta doce horas después de haberse vertido en un vasija en que habían permanecido por algunos días los jugos de zanahorias. Se comprende pues que esta bacteria pueda ser un terrible enemigo para las fábricas de azúcar. El *leuconostoc mesenteroides* invierte el azúcar por medio de la invertina que segrega, luego se alimenta de azúcar invertido al cual quema completamente. Se le cultiva muy bien en una solución de azúcar de caña á la cual se añaden pequeñas cantidades de nitrato y fosfato alcalinos.

El nombre de *fermentación celulósica* del azúcar, que se empleó, es impropio. Primero no hay fermentación, como acabamos de ver; luego la materia gelatinosa producida por el desarrollo de este sér vivo no es celulosa, pues no posee ninguna de sus propiedades; entre

otras no se disuelve en el licor cupro-amoniacal. Tampoco es una substancia albuminoidea; el yodo que tiñe de amarillo las células de los rosarios, no tiene acción sobre ella. Es una materia ternaria que se parece á la dextrina, á la cual Scheibler da el nombre de *dextrana* refiriéndola á la materia viscosa de la fermentación que se nota con igual cualidad.

Se tienen muy pocos detalles respecto al modo de crecimiento de esta especie en medios sólidos. Según Zopf, cultivada sobre pedazos de zanahoria ó de nabos cocidos, forma en ellos espesas zoogleas de consistencia firme, casi cartilaginosa.

§ 3

Género ascococcus

La denominación es de Billroth, pero Cohn es quien precisó los caracteres, describiendo mejor que no lo había hecho el primer observador, la única especie conocida.

Las células, redondas, incoloras, muy pequeñas, están unidas, por jalea poco abundante, en familias esféricas ú ovoideas, con superficie regular ó mamelonada, rodeadas cada una de una densa cápsula hialina, de consistencia cartilagínea.

Ascococcus Billrothii Cohn.—La especie fué señalada por Billroth en el agua de carne putrefacta; más tarde la volvió á encontrar Cohn, desarrollándose en el licor mineral que lleva su nombre.

Forma en la superficie de los líquidos una piel espesa y viscosa, de apariencia lechosa, un poco amarillenta, que recuerda la nata que se forma en la superficie de la leche cocida. Esta membrana es poco resistente; levantándola con una varita de vidrio, se rompe en copos que se esparcen por el líquido. La constituyen numerosos elementos, que presentan la disposición tan característica en familias. Son estas células esféricas, incoloras, de pequeño diámetro, que forman reuniéndose en número considerable pequeñas masas redondas, ovoideas ó elípticas, regulares ó mamelonadas. Estos cocos están apretados entre sí y no dejan ver entre ellos más que muy pequeñas cantidades de la jalea que les une. Las familias tienen, por término medio, de 20 á 60 μ de diámetro; algunas alcanzan 160 μ. Cada una de ellas está rodeada de una espesa cápsula transparente, de consistencia dura, cartilagínea, difícil de romper hasta por una fuerte presión. Esta envoltura no se disuelve en el amoníaco concentrado y no se colorea de amarillo por el yodo, que por el contrario tiñe las masas de células que encierra; se asemeja á las membranas de constitución ternaria. En las familias de gran talla, mide de 10 á 15 μ de espesor.

No se conocen sino muy pocos detalles de los cultivos de esta especie. Se cultiva muy bien en el licor mineral de Chon con los caracteres antes enunciados; allí desarrolla rápidamente un hedor de leche agria ó de ácido butírico y la reacción ácida del medio se vuelve rápidamente alcalina. Se desprende amoníaco, fácil de reconocer con una varilla de vidrio impregnada de ácido clorhídrico. Crece con abundancia en pedazos de nabos ó de remolachas cocidas dando grandes zoogleas blancas, ligeramente verdosas. En el jugo azucarado de remolacha, produce una especie de fermentación viscosa, transformando el azúcar en un producto gomoso; al mismo tiempo se forma ácido butírico.

Su habitación es el aire; Cohn lo obtuvo haciendo barbotar aire en un líquido nutritivo. Es muy probable que hasta ahora no se haya observado en cultivo puro, este último observador no ha podido obtenerlo sino mezclado con otros *micrococcus*.

CAPÍTULO XIV

BACTERIÁCEAS.—GÉNERO «BACILLUS»

Este grupo encierra bacterias cuyos elementos, alargados en un sentido, tienen una longitud mayor que su anchura. La forma típica es el *bastoncito;* éste es ora corto y grueso y aparece en un corte óptico casi como un cuadrado ó como un corto rectángulo; ora su longitud es cierto número de veces mayor que su anchura. La primera de estas dimensiones puede ser muy grande con relación á la otra, esta forma es la de *filamento*. Los palitos ó los filamentos son rectos ó curvos. La curvatura puede ser muy sencilla y no representar más que una pequeña parte de circunferencia; también puede ser complicada, el elemento describe una espiral de mayor ó menor número de vueltas y más ó menos próximos. Cualesquiera que sean la forma y número de estos elementos, nunca se distingue en ellos extremo anterior y posterior, base ni vértice; los movimientos, caso de que existan, se verifican, al parecer, igualmente en ambos sentidos, y cuando los individuos se fijan ó mejor se pegan á un soporte, su parte fija en nada difiere de la que permanece libre.

Muchas especies tienen verdaderos esporos endógenos; variando las condiciones de vida se llegaría probablemente á reconocer la mayor parte de los tipos de esta familia. Estos esporos se producen en las células madres por condensación del protoplasma; son ora mayores ó menores que la célula en que se formaron; ora de igual anchura que ella. Parece que no puede formarse más que un solo esporo por célula; esto es efectivamente lo que sucede en todas las especies en que este fenómeno se ha seguido con toda la precisión apetecible. En el caso en que varios esporos parecen coexistir en un mismo artículo, han debido formarse previamente tabiques, que su gran delgadez y su extrema transparencia hacen á menudo difíciles de ver.

Hemos reunido en esta segunda familia los cuatro géneros siguientes:

1.er género: *Bacillus*. Elementos en forma de palitos cortos ó largos, rectos ó ligeramente encorvados.

2.° género: *Spirillum*. Elementos encorvados, que pueden describir una parte de circunferencia ó una hélice de varias vueltas.

3.er género: *Leptothrix*. Largos filamentos sencillos, rectos ó á menudo ondulados.

4.° género: *Cladothrix*. Largos filamentos rectos ú ondulados, dispuestos en falsa ramificación.

Género bacillus

Este género fué creado por Cohn en 1872, para las bacterias en palitos cuya longitud era cierto número de veces mayor que la anchura. Estas eran las únicas especies en que se conocían verdaderos esporos endógenos.

La longitud relativa era el único carácter que le distinguía del género *bacterium*. Sabemos que este carácter no puede considerarse como absoluto, sino que varía por el contrario entre límites muy apartados, para condiciones de vida que pueden considerarse como normales. De suerte que según el medio de su evolución, una especie podría alternativamente incluirse en el género *bacillus* y el género *bacterium*. Así es que en el *bacillus megaterium* (fig. 35) las células vegetativas comunes son palitos bastante largos (1, 9), las células que van á producir esporos son muy cortas casi cuadradas (2, 3, 4, 5, 6). Se ha demostrado que había esporos en las antiguas especies de *bacterium*, con lo cual se ha permitido reunir en un solo grupo estos dos tipos tan semejantes.

Davaine creyó distinguir en cierta ocasión un género *bacteridium*, caracterizado por la inmovilidad de sus elementos en todos los estados de su existencia. Lo estableció para la *bacteria del carbunclo* y algunas otras observadas en el intestino y las infusiones. Pero la falta ó presencia de movimientos nunca ofrece constancia suficiente para constituir un carácter específico. Son muchas las especies que siendo muy móviles en cierta fase de su existencia, se vuelven completamente inmóviles en el período siguiente ó solamente cuando las condiciones de vida cambian, conservándose favorables; muchas se vuelven, por ejemplo, inertes en el momento de la esporulación.

El género *vibrio* de Ehrenberg era muy poco homogéneo para ser conservado. La mayor parte de sus especies son verdaderos *bacillus* y las restantes *spirillum*. Se conserva la denominación francesa de *vibrion*, que no debe considerarse como un término de clasificación, sino como una simple expresión de valor más general. Fué muy empleada por la escuela de Pasteur, quien la aplica á muchas bacterias móviles *micrococcus* ó *bacillus*. El *vibrion pyogenes* es un *micrococcus;* el *vibrion láctico*, el *vibrion butírico*, el *vibrion séptico*, son *bacillus*.

Lo mismo sucede al género *clostridium* establecido por Prasmowski para el *bacillus butyricus* y algunas otras especies cuyos palitos se hinchan en el punto en que se produce el esporo y toman así la forma de uso, de maza, de renacuajo, de badajo de campana. La figura 109, que representa esporos de una de las especies tipos de este género, la *bacteria del carbunclo simtomático*, muestra la inconstancia y la irregularidad del tal carácter.

Duclaux agrupó bajo la designación de *tyrothrix*, á la que no quiso, sin embargo, atribuir ningún valor genérico, toda una serie de interesantes especies que encontró en las fermentaciones de los albuminoides, en particular en la caseína de la leche. Esos *tyrothrix* pertenecen todos al género *bacillus* tal como lo comprendemos aquí.

Las especies designadas por Hauser con el nombre genérico de *proteus* no pueden separarse de los bacilos. La variabilidad de forma de los elementos se debe principalmente, como ya hemos dicho, á los cambios introducidos en la composición del medio. Esos cambios de aspecto no tienen, por lo demás, el valor que les asigna el autor; sus formas espirales no son más que filamentos entrecruzados y sus cocos son ciertamente esporos. En cuanto á

las particularidades interesantes que presentan las colonias en cultivo sobre placas de gelatina (fig. 110), distan mucho de ser tan distintivas como pretende Hauser. Muchas otra especies presentan, en diversos grados, esta ramificación de las colonias y el desplazamiento lento en la gelatina, dados aquí como especiales. Se encuentran todos los intermedios entre colonias con muy cortas expansiones radiadas (fig. 111), y las que emiten estos prolongamientos, largos, sinuosos, se extienque den hasta muy lejos en la gelatina, y hasta pueden separarse en un momento dado de la colonia central.

Creemos que para subdividir un género tan homogéneo como el género *bacillus,* es prudente esperar que se hayan descrito mayor número de especies y fijado de un modo más preciso el valor de los diversos caracteres, so pena de exponerse á ver luego aparecer intermediarios, que unan íntimamente especies que se han separado por completo en la clasificación.

Para mejor comodidad en la exposición, agruparemos las especies del género *bacillus*, que vamos á describir en tres series:

1.° Especies patógenas.

2.° Especies cromógenas.

3.° Especies fermentos ó de acción indiferente.

Especies patógenas.

Bacillus anthracis Davaine.—Es el agente de la enfermedad, eminentemente contagiosa, conocida en el hombre con el nombre de *carbunclo* ó *pústula maligna,* en el caballo con el de *fiebre carbunclosa,* en el carnero con el de *sangre de bazo* y con el de *enfermedad de la sangre* en la vaca. Esas diferencias de designación de una sola y única enfermedad en varias especies animales, procede de la variabilidad de los síntomas, debida á la diversidad de los modos de contagio, y también á la receptividad propia de cada especie; no fué posible identificar estas enfermedades hasta que se demostró que eran debidas á una única causa.

Rayer y Davaine señalaron, en 1850, la presencia de palitos, desprovistos de movimientos espontáneos, en la sangre de los carneros muertos de *sangre de bazo*. Pollender, en 1855, describió en la sangre carbunclosa cuerpos semejantes, que acerca á los *vibrion* de putrefacción. Brauell, en 1857, encontró los mismos *vibrion,* pero los confunde con las bacterias de putrefacción, que se desarrollan tan rápidamente en la sangre expuesta al aire; para él no son característicos del carbunclo, pero aparecen con más rapidez en la sangre de los animales carbunclosos, donde se les puede encontrar aún antes de la muerte. Pero la etiología de esta enfermedad sólo fué puesta en evidencia por las investigaciones ulteriores de Davaine. Este sabio anunciaba, en 1863, á la Academia de ciencias, la existencia en la sangre carbonosa de esos mismos organismos, que él había percibido trece años antes, y demostraba, precisamente sus caracteres, que se asemejaban á las bacterias, cuyas acciones fisiológicas tan curiosas estudiaba entonces Pasteur. En una serie de memorias, exponía los resultados de sus inoculaciones experimentales, deduciendo de ellos el papel capital que la bacteria desempeña en la infección. Para él era ésta una verdadera especie, distinta de las demás conocidas y principalmente de las que son tan comunes en las putrefacciones, que, cuando eran patógenas, determinaban accidentes distintos, de naturaleza *septicémica*. Basándose en la inmovilidad absoluta de los artículos en todos los períodos de su existencia creyó que debía crear el nuevo género *bacteridium*. Koch fué quien en 1876, estableció en sus menores detalles, la morfología de esta especie, en su estudio magistral que, entre otros detalles, dió á conocer los esporos y sus notables propiedades. Pasteur y sus discípulos Joubert, Roux y Chamberland llegaron á obtener cultivos puros de esta bacteria y á reproducir por medio de ellos una enfermedad completamente semejante á la carbunclosa, dando así un prueba experimental de las más demostrativas. Al mismo tiempo que dilucidaban los puntos diversos de la etiología y patogenia del carbunclo, daban á luz los medios profilácticos que deben oponerse á su desarrollo y descubrían el método tan fecundo de vacunación por medio de cultivos de virulencia atenuada.

El *bacillus anthracis,* examinado en la sangre de un animal muerto del carbunclo, se encuentra en palitos de una longitud, por término medio, de 5 μ á 6 μ por una anchura de 1 μ á 1'5 μ. Se les encuentra aislados ó reunidos en dos ó más, en cortas cadenas; á veces, probablemente cuando la división es rápida, los artículos no se distinguen fácilmente á simple vista y parecen constituir un filamento homogéneo que alcanza hasta 20 μ de largo. Con ayuda de buenos objetivos y haciendo intervenir los reactivos colorantes, se perciben los delgados tabiques que separan las células. A menudo, por el contrario, los palitos que componen una misma cadena aparecen separados entre sí; existe entre dos elementos consecutivos un espacio claro, cuya forma irregular se debe á que los extremos de los artículos no están perfectamente cortados en cuadro, sino que están limitados por una línea ligeramente sinuosa (fig. 112). Koch insiste mucho sobre este carácter, al cual considera como completamente especial del *bacillus anthracis*. Sólo se observa en las preparaciones fijadas y coloreadas como hemos indicado; esto hace creer que es debido á la acción de los reactivos empleados; por lo demás no pierde en modo alguno su valor. A menudo enderredor de los palitos se distingue una pequeña zona clara, hialina, que parece debida á la gelificación de la capa periférica de la membrana.

Cuando estas bacterias se cultivan en ciertos medios, principalmente líquidos como el caldo, el humor acuoso ó el suero sanguíneo, crecen en largos filamentos de la misma longitud que ellas, ondulosos entrecruzados, que tratados por los reactivos, muestran de ordinario una segmentación en artículos más cortos que los palitos de sangre. Esos filamentos como los palitos, sólo presentan un protoplasma homogéneo, completamente transparente desprovisto de granulaciones. Esas formas son inmóviles y parecen serlo siempre, si bien que Toussaint describió ligeros movimientos en los palitos muy jóvenes.

Los largos filamentos de los cultivos producen muy aprisa esporos en su interior. Si bien que se describen generalmente los esporos como formando á veces rosarios en estos filamentos, parece que no se puede producir más que un esporo por artículo. La segmentación de los filamentos debe hacerse antes de la esporulación. Pero la extremada delgadez de los tabiques y su desaparición, que empieza desde que el esporo se ha formado, hacen muy difícil su observación. Se apercibe al principio, en diferentes partes de la longitud de un filamento, series de puntos obscuros, que son el indicio de una condensación del protoplasma. Cada una de estas manchas aumenta y forma un esporo oval, muy refringente, situado en medio del filamento del cual no llena la anchura (fig. 113). Poco tiempo después de la formación de los esporos, los filamentos que los produjeron palidecen, sus contornos pierden su limpieza; la membrana se gelifica y se disuelve en el líquido ambiente. El esporo es puesto en libertad. Para germinar se le debe transportar á un medio nuevo. En él se desarrolla rápidamente; el desarrollo se hace visible á las tres ó cuatro horas. Según Koch, se forma enderredor del esporo, á expensas de la membrana, una zona clara, hialina, que la rodea como una aureola. La masa central se alarga según su diámetro mayor, pierde su brillo y se transforma directamente en una célula vegetativa. Todos estos diversos procesos, crecimiento de los filamentos, formación de los esporos, germinación, se observan fácilmente por medio de los cultivos en células sobre el porta-objetos, cuyo modo de preparación ya hemos indicado.

Las propiedades fisiológicas de los esporos son tan interesantes como las particularidades de su desarrollo. La que domina á todas las demás y desempeña el papel más importante es la resistencia considerable del elemento á las causas de destrucción que atacan rápidamente á la vitalidad de la célula vegetativa. Mientras que los palitos ordinarios mueren á 60°, los esporos completamente formados resisten, en un medio húmedo, á 95° durante diez minutos y pueden calentarse hasta 80° durante mucho tiempo sin perecer. Koch todavía pudo observar el desarrollo de esporos que había mantenido por algún tiempo á 123° en el aire seco. Del mismo modo soportan la acción del oxígeno comprimido y de muy fuertes presiones. En fin, la desecación, la privación de alimen-

tos ó de aire no influyen sobre estos órganos reproductores.

Bajo influencias todavía mal determinadas, los cultivos de *bacillus anthracis* pueden perder la propiedad de formar esporos, conservando su virulencia. Se produce así una variedad *asporógena,* que puede perpetuarse infinitamente, tal cual es, únicamente por la multiplicación vegetativa. Chamberland y Roux la obtuvieron haciendo actuar sobre los cultivos pequeñas dosis de antisépticos, principalmente de bicromato de potasa. Lehmann encontró el mismo hecho en los cultivos viejos sobre gelatina.

En los caldos de cultivo, principalmente en los que están sembrados desde mucho tiempo, se notan á menudo filamentos modificados en su forma y sus dimensiones, presentando en su trayecto hinchazones irregulares, ovoides ó en forma de ampollas, series de granos más á menos redondeados, de diámetro muy inconstante; son éstas, *formas de involución,* indicio seguro del agotamiento del medio. Algunos observadores han descrito, sin razón seguramente, algunas de estas formas redondeadas como *coccus,* que normalmente formaban parte del ciclo evolutivo de la especie.

Los cultivos del *bacillo del carbunclo* prosperan fácilmente en todos los medios. Es fácil de obtener con sangre de animales carbunclosos, que, cuando se toma con las precauciones necesarias, no suministra más que una sola especie. En los casos que en varias bacterias se encuentran mezcladas, el empleo de los cultivos sobre placas permite aislar fácilmente el de *bacillus anthracis,* que da en este caso cultivos de aspecto tan especial y tan característico que no es posible temer un error. Pasteur empleó, al principio de sus investigaciones, los medios de que se servía en esta época para sus estudios sobre las fermentaciones, principalmente su solución mineral y la orina esterilizada y ligeramente alcalina. La especie vegeta en ellos, pero de seguro con menos abundancia que en los caldos de carne que son hoy el medio líquido preferible. El desarrollo, exclusivamente se verifica en presencia del oxígeno; el *bacillo del carbunclo* es un verdadero aerobio. La privación de aire mata rápidamente las células vegetativas, pero respeta los esporos que la resisten largo tiempo. Un cierto grado de calor es necesario para el crecimiento; la división no podría operarse á una temperatura inferior á 12°; los esporos no se forman si ésta es inferior á 15°. Hay al parecer un optimum de vegetación cerca de 20°-25°. A 43° la formación de los esporos se detiene; la multiplicación vegetativa continúa lentamente para cesar luego completamente cuando la temperatura pasa de 45°. Es este un principio importante de notar, del cual pronto encontraremos una notable aplicación: que nunca se pueden formar esporos en cultivos mantenidos con cuidado y sin interrupción á 43°.

Los palitos tomados en la sangre ó los elementos de los cultivos se colorean muy bien con los colores de anilina. Tratados por el método de Gram, guardan su coloración. Los esporos se tiñen fácilmente por el procedimiento común de doble coloración de los esporos.

Se obtienen fácilmente hermosas colonias sobre placas manteniendo los cultivos á una temperatura al menos de 15°. En estas condiciones ya se aperciben después de veinticuatro horas, á simple vista, pequeños puntos blancos en la gelatina. Examinados con un aumento de 60 diámetros próximamente, estos puntos aparecen como otras tantas pequeñas colonias granulosas redondeadas, teñidas de un color amarillo sucio, con bordes ligeramente sinuosos. Estas colonias se agrandan más y más; el aspecto de la substancia cambia. Al cabo de treintiséis horas, se forman en su masa filamentos, que hacen que se asemejen á una masa de hilo irregularmente apelotonado; las sinuosidades de los filamentos aparecen perfectamente en la periferia; algunos de ellos pueden también salir de la masa y ondular en la gelatina ambiente (fig. 114). Las colonias de tres ó cuatro días tienen un aspecto completamente distinto (fig. 115). Están enteramente formadas por una reunión de filamentos unidos en mechas onduladas de aspecto elegante, que recuerdan los cabellos rizados, ó de copos filamentosos blanquecinos, regulares, sumergidos en la jalea transparente. Cuando las colonias han alcanzado 3 ó 4 milímetros, la gelatina se licua en derredor de

ellas; se disgregan y los copos disociados flotan en un líquido claro.

En picadura en un tubo de gelatina el desarrollo es también muy característico. Al principio, comúnmente de veinticuatro á treintiséis horas después de la inoculación, se forma en el canal de la picadura una delgada banda blanquecina, de donde parten en dirección perpendicular, muchos pequeños filamentos rectos, desarrollados principalmente en la parte superior (fig. 80). El cultivo tiene el aspecto de la felpa. Esos filamentos aumentan poco á poco é invaden al cabo de algunos días toda la gelatina que rodea la picadura. El cultivo toma el aspecto representado en la (figura 80); se parece á estos copos blanco brillantes que coronan el fruto de muchos cardos. En la superficie de la jalea se produce una pequeña colonia blanquecina que sigue á la que se desarrolló en el canal. Después de una decena de días la gelatina se licua progresivamente (fig. 116). Cuando la licuación ha invadido una gran parte del tubo, se ve nadar en el líquido completamente claro un gran copo blanco producido por la colonia vellosa ligeramente apelotonada sobre sí misma. Más tarde la colonia se disgrega, cae y viene á formar un depósito blanco sucio en el fondo del tubo.

Sobre gelosa, se produce á lo largo de la estría una colonia blanquecina, bastante densa, de consistencia frágil, caseosa. El suero solidificado es licuado con bastante rapidez.

Sobre patata, la vegetación es abundante. Da en pocos días una capa espesa de un color blanco sucio, opaca, con bordes ligeramente transparentes. El cultivo despide un olor un poco agrio.

En caldo colocado en estufa á 30°-35°, se observa en un día copos blancos, bastante densos, los que se forman en la superficie y principalmente en las paredes del vaso. Estos copos pueden permanecer adheridos al vaso; por regla general se desprenden y caen en el líquido. En él nadan durante mucho tiempo y aparecen entonces como ligeros velos en el caldo que se conserva límpido; por agitación no enturbian la transparencia. En un momento dado, se precipitan y forman, en el fondo del vaso de cultivo, un sedimiento blanquecino, menos ligero, que se esparce por el líquido desde que se remueve el matraz, y le enturbia uniformemente. Para darse fácilmente cuenta de estas particularidades puede examinarse el cultivo al microscopio, en cada una de sus diferentes fases. Los filamentos al principio son largos, flexibles, están entrecruzados; los esporos empiezan á formarse en su interior. Cuando caen al fondo del vaso la esporulación ha terminado, la membrana empieza á reabsorberse para poner en libertad los esporos. En fin, el depósito de los cultivos adelantados está únicamente formado de esporos libres, que se esparcen por todo el líquido á la menor agitación.

Los cultivos hechos como acabamos de indicar, á una temperatura de 15° al menos, tienen una virulencia idéntica á la de la sangre tomada en un animal carbuncloso. Los efectos determinados por la inoculación de sangre y de productos de cultivo son idénticos. La bacteria de la sangre es asimismo tan ávida de aire como la de los cultivos; únicamente quita el oxígeno á la combinación débil que forma con la hemoglobina. Quizás sea debido á este estado asfíxico el tinte negruzco de los tejidos, observado á menudo en el carbunclo del hombre, que ha hecho dar el nombre á la enfermedad. Sin embargo, es preciso notar que los palitos de la sangre nunca forman esporos y se reproducen únicamente por división; los esporos parece que sólo pueden formarse en el aire, en presencia del oxígeno libre.

La infección en el organismo puede hacerse por vías diferentes. El modo de penetración más empleado es la inoculación subcutánea. Basta hacer una pequeña incisión en la piel de un animal susceptible de contraer el carbunclo y depositar en ella algunos bacilos ó algunos esporos, para ver aparecer la enfermedad y evolucionarse con sus síntomas típicos. Este modo de infección es raro en la naturaleza. Por la superficie intestinal es principalmente por donde el agente virulento penetra en la sangre en nuestros animales domésticos, en que la enfermedad fué considerada por mucho tiempo como espontánea; ya sea que la mucosa presente uno de sus rasguños tan frecuentes que permita la introducción directa, ya sea que los bacilos puedan atravesar

activamente las capas superficiales y llegar al sistema sanguíneo.

Las diferentes especies animales, en las que se acostumbra á experimentar, presentan diversos grados de receptividad para la enfermedad carbunclosa. Entre las más sensibles encontramos las que son diezmadas por la enfermedad cuando ésta ataca epizoóticamente, los carneros, las cabras, los caballos, las vacas. Con éstos los conejos, las cobayas, los ratones, son los más fáciles de infectar. Según los experimentos de Chauveau, los ratones comunes presentan más resistencia, así como los bueyes jóvenes. Los cerdos, los perros, los gatos, las ratas blancas, parecen ser refractarias. Pero la inmunidad más curiosa es sin duda alguna la que protege á toda una raza de carneros de Argelia, los carneros *berberiscos;* este hecho fué estudiado por Chauveau. Los individuos de esta raza, nacidos en cualquier parte de padres que fueron criados después de varias generaciones, resisten á inoculaciones carbunclosas reiteradas, que matan sin excepción á los carneros indígenas. Esta inmunidad, sin embargo, no es absoluta, y puede vencerse por la introducción en la sangre de grandes dosis del agente infeccioso. Otras veces la inmunidad sólo es relativa; cede cuando se han hecho desaparecer ciertas condiciones desfavorables en el organismo refractario ó que se cambian sus condiciones de vida. Las gallinas fueron consideradas, por mucho tiempo como refractarias; Pasteur logró hacerlas perecer del carbunclo bajando artificialmente su temperatura, lo que se obtiene fácilmente immergiendo en agua fría una parte del cuerpo de esas aves, las patas por ejemplo. Elevando la temperatura del cuerpo de las ranas, mantenidas en el agua á 35°, Gibier les comunicó un carbunclo mortal, cuando se creía que no podían contraerle. Las inoculaciones hechas en diversas especies de invertebrados, particularmente en los caracoles, nunca ha dado resultados. La edad ó el estado de salud de un individuo puede por lo demás influir considerablemente sobre el efecto de la infección. Un animal enfermo moriría con dosis ínfimas, que sólo determinarían trastornos pasajeros en un congénere sano. Asimismo un animal joven sucumbiría mucho antes que un adulto, y tanto más aprisa cuanto menor sea su edad; cultivos poco virulentos no determinarían en los conejos ó cobayas adultos más que una enfermedad curable, mientras que harían perecer irrevocablemente, otros mucho más jóvenes ó de algunos días de edad únicamente.

En la cobaya y el conejo la inyección subcutánea de algunas gotas de sangre carbunclosa fresca ó de un cultivo reciente de *bacillus anthracis,* ó más sencillamente la picadura de la piel con una lanceta ó una aguja cargada de productos carbunclosos, determina en el punto de inoculación, al cabo de diez á quince horas, un edema bastante pronunciado; la temperatura se eleva uno ó dos grados. El animal guarda su apetito y sus apariencias de salud hasta algunas horas antes de la muerte que sobreviene de treintiséis á cuarenta horas después de la inoculación en la cobaya, de cuarentiocho á sesenta en los conejos. Se amodorra de repente, es atacado de disnea, se aletarga y muere después de algunas ligeras convulsiones á una temperatura muy baja; 34°-32° y aun 30°.

En la autopsia, la parte del cuerpo en que se ha hecho la picadura es edemática; en el líquido rojizo que en ella se recoge pululan palitos más largos que los que se encuentran en la sangre. Los ganglios linfáticos de esta región son muy abultados; contienen una cantidad considerable de bacterias. El bazo es tumefacto, difluyente; el hígado y el pulmón están repletos de sangre negra. La sangre tomada en todas sus partes muestra numerosos palitos. Estas bacterias llenan á menudo las redes capilares y se pegan á las paredes de los vasos, y pueden obturar completamente el orificio y ocasionar rupturas vasculares. De allí es de donde vienen las que se encuentran en la orina ó la leche de los animales de mayor talla. También es de este modo que pueden, en las mujeres embarazadas atacadas del carbunclo, penetrar en la placente y contaminar el feto en el mismo cuerpo de la madre.

En ciertas condiciones, la virulencia de los cultivos del *bacilo del carbunclo* no se mantiene en su grado máximo, sino que disminuye poco á poco, á medida que actúan las causas que pueden atenuarla. A Pasteur le cabe

el honor de haber sido el primero en determinar por qué medio se puede llegar á obtener series de virus de acción perjudicial decreciente, que varían más ó menos según el deseo del experimentador. Ya había demostrado que la atenuación de los cultivos del *micrococcus del cólera de las gallinas* era debida en su mayor parte, sino en la totalidad, á la acción prolongada del oxígeno; el mismo procedimiento era aplicable al *bacillus anthracis*. Pero para esta última especie hay que tener en cuenta la presencia constante en los cultivos ordinarios, de esporos tan resistentes, que se oponen á toda tentativa de atenuación. Pasteur resolvió muy hábilmente la dificultad, impidiendo la formación de esporos en los cultivos que quería atenuar. Obtuvo esto manteniendo los caldos á una temperatura de 43°, en la cual, según hemos visto, los filamentos ya no pueden producir esporos. A esta temperatura todavía se verifica bien la multiplicación vegetativa, pues ésta no cesa hasta los 45°, pero los cultivos ya no tienen la resistencia que debían únicamente á los esporos. Mantenido en tales condiciones en contacto del aire durante un mes, el cultivo muere; algunos días antes, contenía células vivas capaces de fertilizar nuevos medios, pero carecía por completo de virulencia, que todo cultivo ha perdido después de ocho días de este tratamiento. Entre el día primero y el octavo, el cultivo pasa por grados diversos de atenuación; es tanto más virulento, cuanto más se aleja del punto de partida. Como estos virus atenuados confieren, al menos parcialmente, la inmunidad contra la enfermedad, se imaginó un método práctico de *vacunación carbunclosa,* el cual por ahora ha dado excelentes resultados.

Los elementos de esta bacteria atenuada difieren sólo en algunos pequeños detalles de cultivo, de los cultivos muy virulentos; sin embargo á un observador no prevenido le sería casi imposible hacer la distinción. Esos detalles, por lo demás, desaparecen completamente cuando se provoca la formación de esporos en caldos atenuados y se obtienen cultivos nuevos. Pero entonces la acción fisiológica no es la misma del principio; el esporo fija, por decirlo así, la virulencia que tenía el cultivo en donde se formó y la reproduce idéntica en el nuevo cultivo.

Sin embargo, es posible volver á una bacteria así atenuada su virulencia primitiva, haciéndola pasar sucesivamente por el cuerpo de animales, impresionables de menos á menos. Una bacteria dada, inofensiva para la cobaya adulta, podrá matar la cobaya de un día; su virulencia experimenta entonces un pequeño refuerzo, y puede hacer perecer entonces una cobaya de dos días. Y así sucesivamente, poco á poco, después de un período bastante largo y de numerosos pasos, hará morir una cobaya de ocho días, luego la de un mes, después una adulta, fuerte de más á más, y finalmente se volverá muy virulenta para el mismo carnero. Así ha vuelto á su fuerza primitiva, la cual guardará si nadie interviene pera atenuarla.

El método empleado por Pasteur no es el único que conduce á la atenuación de los cultivos del *bacillus anthracis,* y por consiguiente á la preparación de vacuna. Antes que este sabio hubiese llegado á obtener los resultados que acabamos de indicar, Toussaint había anunciado la posibilidad de obtener una vacuna eficaz calentando á 55°, durante diez minutos, sangre carbunclosa desfibrinada, ó añadiendo á este mismo líquido un 10 por 100 de ácido fénico. Chauveau se volvió á ocupar del estudio de este procedimiento y lo aplicó á la atenuación de caldos de cultivo. La disminución de la virulencia en este caso es tanto más rápida cuanto menor es la temperatura; así, mientras que un cultivo mantenido á 45° necesita algunos días para atenuarse lo suficiente, el mismo resultado puede obtenerse en algunas horas á 47°, y en algunos minutos á 50° ó 53°. Para Chauveau, en esta acción la influencia del oxígeno es nula; únicamenre se debe al exceso de calor el que los cultivos se atenúen, se alteren y mueran. Chamberland y Roux lograron, como Toussaint, obtener una atenuación de virulencia, añadiendo á los cultivos dosis más ó menos crecidas de antisépticos; para ellos la condición exclusiva para la atenuación es también la falta de formación de esporos, determinada por la composición tóxica. Hay otros factores que dan resultados idénticos; Chauveau obtuvo una atenuación rápida haciendo

actuar oxígeno comprimido; Arloing observó una disminución gradual y finalmente la desaparición completa de la virulencia de los cultivos bajo la influencia de los rayos solares. No obstante, el método de Pasteur es el que hasta ahora ha dado resultados más constantantes y seguros.

La vacunación carbunclosa según el método de Pasteur pertenece hoy al dominio de la práctica general; aplicada al carnero da por resultado una gran disminución de la mortalidad en ciertos distritos en los que la *sangre de bazo* causaba desvastaciones incalculables.

Puede dar entrada, según parece, al virus en el organismo, en los animales domésticos, la superficie del tubo digestivo; Pasteur demostró que mezclando á los elementos contaminados por cultivos virulentos, substancias duras, punzantes, que puedan lesionar la pared del tubo intestinal, se determina en los carneros contaminaciones en una proporción enorme. Es necesario, según él, que existan en la mucosa, la de las vías anteriores principalmente, faringe y esófago, rasguños que permitan el paso directo de las bacterias á la sangre. Según Koch, no hay necesidad de estas lesiones, la penetración se verifica directamente por la mucosa intestinal; pero como á las células vegetativas las mata el jugo gástrico, para que haya infección en este caso, es preciso que el animal haya tragado esporos. Estos pasan intactos al intestino, en él encuentran un medio alcalino favorable á su germinación y dan palitos que se multiplican y penetran en la sangre atravesando la mucosa. También puede verificarse por las vías respiratorias; Büchner logró hacer perecer del carbunclo ratones que encerraba en un espacio en que había finísimo polvo inerte, al cual había mezclado esporos de *bacillus anthracis*.

Ahora bien, ¿cuál puede ser el origen de estos esporos que se mezclan á los alimentos de los carneros, vacas, caballos, etc., y el comunicar el carbunclo digamos espontáneo? ¿Proceden únicamente de los cadáveres de animales carbunclosos? Pasteur, Chamberland y Roux pudieron liducidar esta cuestión tan importante de la etiología de las enfermedades carbunclosas, en una serie de experimentos muy notables. Cuando se entierra un animal muerto del carbunclo, se esparce por la tierra que le rodea sangre ú otros líquidos que contienen bacterias del carbunclo en abundancia; estas células, encontrándose en buenas condiciones de aeración y temperatura, dan los esporos cuya presencia hizo constar Pasteur, en la tierra que recubre las fosas de los animales carbunclosos, enterrados, en un caso, después de doce años. Sometiendo el agua de levigación de esta tierra á una temperatura de 90° durante veinte minutos, mata todos los gérmenes que contiene, á parte los del *vibrión séptico* y de la *bacteria del carbunclo*, si existe. Los animales inoculados, en caso positivo, mueren, ya del carbunclo, ya de la septicemia. Pasteur pudo así encontrar esporos en la capa superficial de las fosas en que habían sido enterrados animales carbunclosos algunos años antes, y demostrar así directamente la longevidad y la resistencia extraordinaria de estos cuerpos reproductores. Para él los esporos formados en la tierra enderredor del cadáver, antes que la putrefacción venga á matar las bacterias, pueden ser llevadas á la superficie por los gusanos de tierra que tragan, en las profundidades del suelo, partículas de tierra para arrancar de ellas las substancias nutritivas que contienen y las devuelven á la superficie bajo la forma de pequeños cilindros de contornos variados. En efecto, él determinó casos de carbunclo típico, inoculando á cobayas pequeños cilindros vermiculados de éstos, producidos por gusanos criados en tierra que había sido regada por cultivos virulentos. Los nuevos experimentos de Feltz han venido á confirmar tan importantes resultados. Estos esporos pueden contaminar el lugar en que están ó son arrastrados muy lejos por las aguas de lluvia ó de arroyuelo, y transportar así la enfermedad á puntos en que nunca fueron enterrados animales carbunclosos. Poincaré hizo constar su presencia en las aguas de algunas praderas. Todos estos accidentes de contaminación aumentan considerablemente cuando los cadáveres son abundantes en la superficie del suelo ó enterrados á pequeña profundidad y desenterrados luego por los carniceros, cosa que desgraciadamente es muy frecuennte en el campo. Según los experimentos de Feltz, se produce en condiciones poco conocidas to-

davía, una atenuación sensible de la virulencia de las bacterias del carbunclo que residen en la tierra; ya no matan los conejos que vacunan, pero todavía hacen perecer las cobayas.

El carbunclo por contaminación interna, tan frecuente en los animales, es por el contrario raro en el hombre, en el cual el punto de contaminación del virus es comúnmente el tegumento externo lesionado. La primera manifestación de la infección del organismo es entonces una lesión puramente local. Al principio es una pequeña mancha roja que da una vesícula pardusca, que se abre y deja ver una ulceración roja lívida; las partes cercanas se entumecen; los dolores son sordos y poco acusados. Tres ó cuatro días antes de la aparición de la primera mancha, aparece la fiebre indicando la generalización de la infección. El estado general se agrava y llega la muerte, ó bien sobreviene una mejora, la costra se limita y es eliminada poco á poco, y la cura se verifica lentamente. Esta es la enfermedad carbunclosa descrita con el nombre de *pústula maligna*. Esta enfermedad se observa principalmente en las comarcas en que reinan las epizootias carbunclosas y en los individuos que manejan los despojos de animales carbunclosos, pastores, carniceros, curtidores, etcétera. La inoculación se verifica al contacto de productos virulentos con soluciones de continuidad de la piel, heridas ó simples rasguños. Las moscas de trompa picante, los *tábanos*, los *asilos* principalmente, pueden seguramente servir para transportar el virus picando al hombre después de haberse alimentado de sangre de animales carbunclosos; si se han quedado en su trompa palitos ó esporos; pero este modo de contagio es el más raro. Existe además en el hombre un *carbunclo interno*, en el que la infección se verifica como para la *sangre de bazo* del carnero y la *fiebre carbunclosa* de la vaca, es decir, por la vía intestinal. La principal causa, ya que no la única, es el uso de la carne de animales carbunclosos, que desgraciadamente todavía hoy, es considerada en muchos puntos, como completamente inofensiva. Este carbunclo interno (miscosis intestinal) es frecuente en ciertas comarcas y generalmente mata con bastante rapidez; se han señalado, no obstante, algunos casos más benignos que han terminado con la cura, pero esto no son más que excepciones. Finalmente la vía de entrada en el hombre puede ser el aparato respiratorio, como en los experimentos de Büchner ya citados. Este es sin duda el origen de los casos de carbunclo interno tan frecuentes en los desmontadores de lana, y de la enfermedad compleja, que se asemeja más á las septicemias producidas por otras bacterias, conocida con el nombre de *enfermedad de los traperos;* los obreros que ejercen estas profesiones están, en efecto, muy expuestos á absorber esporos de *bacillus anthracis* con el polvo que aspiran.

Los hermosos estudios de Pasteur probaron hasta la última evidencia cuales son los resultados que se tiene el derecho de esperar, para la profilaxia de las enfermedades carbunclosas del hombre y de los animales, aprovechando los hechos adquiridos. Es necesario enterrar á gran profundidad los cadáveres de animales carbunclosos; su incineración completa debiera ser obligatoria, así como también la desinfección lo más perfecta posible, al menos al agua hirviente, de las partes manchadas de sangre, de líquidos orgánicos ó de deyecciones. El consumo de carne carbunclosa debe ser severamente prohibido. Se reconoce fácilmente por su blandura, su color obscuro que persiste apesar de la exposición prolongada al aire; al cortarla, se desliza por los orificios de los vasos una sangre negra, espesa, que encierra muchos palitos característicos; además se pudre con mucha más rapidez y entonces puede determinar accidentes septicémicos. Ya hemos visto que la leche de vacas carbunclosas puede también ser virulenta. Las autoridades están suficientemente armadas por la legislación, por lo tanto toda negligencia por su parte es culpable.

Bacillus tuberculosis Koch.—El descubrimiento de Villemin de la inoculabilidad del tubérculo, en el cual basó la teoría del contagio de la tuberculosis, hacía muy probable la presencia, en las materias virulentas, de un agente infeccioso de naturaleza bacteriácea. Esta teoría, que fué objeto al principio de una oposición tan sostenida, recibió una brillante confirmación con el descubrimiento

de Roberto Koch, del *bacilo tuberculoso* y el estudio completo que hizo de sus propiedades. La gran dificultad de distinguir estas bacterias, muy pequeñas y completamente transparentes, de los líquidos ó de los tejidos de igual refringencia que ellas, y la imposibilidad en que uno se encuentra de diferenciarlas de otras inofensivas, muy frecuentes en los esputos, eran principalmente los grandes problemas que Koch logró resolver, con grande honor suyo, á fuerza de ciencia y de sostenido trabajo. Primero logró colorearlas, sometiendo las preparaciones á la acción de un baño coloreante alcalino, mucho más activo que las simples soluciones alcalinas que hasta entonces no habían dado resultado alguno. Todavía hizo más; aprovechando la propiedad inversa y correlativa que tienen estos bacilos de retener el color mucho más tiempo que la mayor parte de los otros, y de no cederlo sino después de una acción prolongada del reactivo decolorante, pudo conservar en una preparación compleja, un matiz dado y teñir de un color distinto los elementos diversos y las otras bacterias contenidas en la substancia examinada. Faltaba probar que esos organismos encontrados en los productos tuberculosos del hombre y de los animales, principalmente en la *tisis pulmonar* de la vaca, era la causa real de la enfermedad y el agente de contagio. Koch lo ha demostrado aislando esta bacteria, obteniendo cultivos puros de ella y reproduciendo la enfermedad típica por la inoculación de estos cultivos. El método seguido por Koch fué perfeccionado luego por numerosos observadors, cuyos trabajos hicieron del estudio del *bacilo tuberculoso* uno de los puntos esenciales del diagnóstico de la tuberculosis, sobre todo al principio, cuando los síntomas comunes son poco pronunciados ó todavía no han aparecido.

Koch trataba los cortes de tejidos ó las láminas preparadas, extendiendo una tenue capa de esputos ó de otros líquidos, por la superficie, que secaba y fijaba por traspaso en la llama, por un baño alcalino, preparado mezclando:

Solución alcohólica concentrada de azul de metilo.	1 vol.
Solución de potasa el 10 por 100.	2 »
Agua destilada.	200 »

Las preparaciones debían permanecer un día en la solución fría ó algunas horas solamente calentándola á 40° ó 50°. Sumergiéndolas entonces en una solución acuosa concentrada de vesuvina, se observa que al cabo de un cuarto de hora próximamente, el color pardo sustituye al tinte azul primitivo en todos los elementos que retienen débilmente el color, mientras que persiste en los *bacilos tuberculosos* desde entonces fáciles de reconocer, puesto que están coloreados de azul en un fondo de elementos pardos. La reacción era tanto más característica, cuanto que según las investigaciones de Koch, ninguna otra bacteria se comportaba de esta suerte, excepto, sin embargo, el *bacilo de la lepra,* del que otras particularidades pueden distinguirle fácilmente.

Ehrlich perfeccionó este procedimiento sustituyendo á la solución de potasa, que puede tener inconvenientes, el *agua de anilina* á la cual se añade una décima de su volumen próximamente de solución alcohólica concentrada de materia colorante, siendo preferible violeta de genciana ó fucsina. El baño se emplea caliente, cerca de 50°; la coloración es mucho más rápida. La decoloración se verifica por el ácido nítrico al tercio ó por alcohol, y la doble coloración según convenga.

El método de Fränkel da muy buenos resultados; une en el mismo baño el reactivo decolorante al colorante de fondo, con lo cual simplifica las manipulaciones y produce dobles coloraciones muy hermosas.

Los palitos así coloreados (fig. 117) miden una longitud media de 1'5 μ á 3'5 μ, del cuarto á la mitad del glóbulo rojo. La anchura es más uniforme, es comúnmente de 0'3 μ; los bacilos preparados por el método de Koch parecen un poco más delgados que los coloreados según el procedimiento de Ehrlich. Son rectos ó con más frecuencia ligeramente curvos (figura 118), á veces hasta están plegados según Koch. La anchura no es siempre uniforme; presentan á menudo una serie de estrangulamientos que les dan la apariencia de morcillas irregulares, ó bien, si son más pronunciados, de una cadena formada de artículos ovoideos. Esto explica el porque se pudo afirmar, que estos bacilos se transformaban en un momento dado en una cadena de *coccus*.

A causa de la acción de las soluciones colorantes, se distingue á menudo en el mismo cuerpo del palito un número variable, de cuatro á seis comúnmente, de vacuolas incoloras, de forma oval, que Koch cree son esporos, sin poder, no obstante, dar una prueba de ello (fig. 119). Según él, el artículo que se prepara á esporular se divide primero en artículos cortos en número de dos ó menos y de seis ó más en cada uno de los cuales aparece un punto brillante que aumenta y da un esporo refringente. Los palitos son siempre inmóviles.

El *bacillus tuberculosis* se cultiva fácilmente en diversos medios sólidos. Exige para desarrollarse una temperatura relativamente elevada; la multiplicación empieza á 28° ó 29°, es muy débil á 30° y se verifica mejor cerca de 38°; á 42° ya no se observa ningún crecimiento ni aun después de mucho tiempo. Hasta en las mejores condiciones, los cultivos piden de ocho á quince días para aparecer.

Koch fué el primero que logró cultivar esta especie sobre suero sanguíneo. Casi no es posible sembrar directamente los esputos de tuberculosos, á causa del gran número de bacterias que contienen cuyo desarrollo más rápido mataría rápidamente la vegetación lenta del *bacilo de la tuberculosis*. Es preciso emplear la materia tuberculosa, recogida directamente en la autopsia y del mejor modo posible en una cobaya inoculada bajo la piel del vientre, que se sacrifica quince días ó tres semanas después de la inoculación. La toma de substancia se verifica en el hígado ó el bazo, sobre todo si son ricos en tubérculos, empleando todas las precauciones requeridas para oponerse á la introducción de gérmenes extraños. Finalmente, Koch recomienda como condición esencial, desmenuzar bien esta materia tuberculosa antes de sembrarla, lo cual se obtiene fácilmente triturándola en un tubo esterelizado con una fuerte varilla de vidrio.

Inoculando en estría sobre suero solidificado, aparecen en la superficie, al cabo de diez á quince días, pequeñas manchas de un color blanco mate, sin brillo, que se distinguen del substrato que las rodea. Estas manchas parecen pequeñas lágrimas escamosas secas, flojamente pegadas á la superficie de la jalea. A veces se forma una cantidad suficiente para cubrir la superficie libre del medio. Estas pequeñas colonias son sobre todo muy numerosas cuando se ha sembrado el contenido de una caverna rica en bacterias. También pueden ser confluentes entre sí y formar una especie de membrana. Estas masas tienen cierta consistencia; agitadas en un líquido no se disocian, pero caen al fondo en conjunto. Esos cultivos se desarrollan bien en pequeños cazos de vidrio planos, tapados con una cubierta que cierre bien. Se dispone en estos vasos una capa de 1 á 2 centímetros de suero y se le esteriliza y solidifica como si se tratase de tubos.

Las colonias sobre suero solidificado, vistas con un aumento de 80 diámetros, presentan un aspecto muy particular y sumamente característico. Parecen compuestas por pequeñas masas lineares, sinuosas, con elegantes curvas, de las cuales las más pequeñas tienen la forma de una S; las más largas describen serpenteando numerosas vueltas (fig. 120). La parte central de esta especie de arabescos es más densa; los extremos están adelgazados. En las partes espesas del cultivo, estas zoogleas lineares están apiladas en gran número y entrecruzadas. Estas líneas sinuosas están constituídas por bacilos dispuestos en un orden regular y constante. Para convencerse de ello basta hacer una de estas preparaciones microscópicas que hemos designado con el nombre de *preparaciones por impresión*. Una lámina que sea á propósito se aplica á la superficie de un cultivo y se mantiene por poco tiempo ligeramente apoyada; se retira rápidamente con unas pinzas finas, cuidando de que no frote con la colonia. De esta manera, las materias superficiales se pegan á la lámina guardando sus relaciones respectivas. Esta lámina es fijada y coloreada por los procedimientos ordinarios. Se obtiene entonces el aspecto representado en la figura 90. Cada una de las líneas sinuosas de la colonia se presenta formada de bacilos pegados en su longitud y dirigidos en el sentido del eje mayor de la zoogleа; el número de palitos pegados es mayor ó menor en un punto dado, según la anchura de este mismo punto. Koch cree que existe una especie de jalea fundamental que retiene los diferentes artículos en un orden tan regular. Pero no es sólo en los cultivos en donde

se puede observar esta disposición especial; se presenta igualmente perfecta en el organismo, en todos los casos en que se ha estorbado el desarrollo de los bacilos. La figura 90 representa el aspecto de una preparación por impresión de una gran masa tuberculosa de hígado de una cobaya, en un todo semejante al obtenido con los cultivos sobre suero.

Koch logró cultivar esta misma especie sobre suero líquido esterelizado; se desarrolla en la superficie una tenue membrana blanquecina, seca, muy frágil, que se rompe á la menor agitación y se deposita al fondo del vaso; el líquido permanece indefinidamente límpido. La gelosa y el caldo no le dieron sino resultados muy medianos.

Nocard y Roux obtuvieron cultivos mucho más hermosos y abundantes, añadiendo á los diversos medios, proporciones bastante crecidas de glicerina, de 6 á 8 por 100. Sobre suero glicerinado solidificado, el cultivo aparece ya desde el cuarto día y forma, al vigésimo, una masa blanca, espesa, mamelonada. La gelosa glicerinada todavía es más conveniente. En estría la superficie libre se cubre de una capa blanquecina, que amarillea á la larga. En picadura, el desarrollo no se verifica en la parte profunda de ella, sino solamente en su parte superior; en la superficie se forma un cultivo espeso, saliente, mamelonado, con bordes sinuosos, primero blanca, luego amarillenta (figura 121). En caldo glicerinado al 5 por 100, aparecen en algunos días, al fondo del vaso, copos muy tenues que crecen rápidamente y cubren en quince días esta parte inferior. Los bacilos de estos cultivos son más cortos que los que se encuentran en los esputos y los productos tuberculosos del hombre ó de los animales; presentan las mismas particularidades de coloración y ofrecen á menudo hinchamientos ovoideos, descritos por Koch como esporos. La adición de glicerina suministra ciertamente un alimento propicio á la bacteria, pero también ayuda el desarrollo impidiendo la desecación de la superficie, que se mantiene húmeda y quebradiza, mientras que con el suero simple, aunque se use del capuchón de cautchúc, se deseca muy pronto, se vuelve dura y alimenta mucho peor las colonias que en ella se forman. Además la vitalidad del bacilo cultivado en medios glicerinados es, por decirlo así, exaltada; se obtienen de ellos fácilmente cultivos sobre gelosa y caldo ordinarios, en donde no se desarrolla directamente.

Todos estos cultivos son virulentos; Koch obtuvo por su inoculación resultados idénticos á los que dan los productos tuberculosos; Nocard y Roux hicieron constar los mismos hechos. La virulencia no se atenúa, al parecer, por ninguno de los medios empleados á este efecto. La inoculación bajo la piel en la cavidad abdominal y en la cámara anterior del ojo de cobayas ó de conejos determina, en poco tiempo, una tuberculosis típica, con generalización en los principales órganos. La atenuación tampoco se obtiene por pasos sucesivos por el organismo animal; se pueden establecer series muy numerosas de inoculaciones procedentes una de otra sin ver disminuir en nada la intensidad de la enfermedad. Esos cultivos sobre gelosa glicerinada pierden, no obstante, algo de su virulencia con el tiempo; pueden ser inofensivas después de seis á siete semanas.

Esta persistencia de la virulencia se encuentra además en alto grado en los productos tuberculosos tomados en el organismo, procedentes de una tuberculosis espontánea. Está relacionada quizás con la presencia, todavía problemática, de esporos en la bacteria específica. Los esputos tuberculosos en particular pueden permanecer activos meses enteros, si se han desecado de un modo lento y gradual. Los experimentos recientes de Galtier no dejan duda alguna respecto este punto. Con materia tuberculosa calentada durante veinte minutos á 60° ó diez minutos á 71°, ó perfectamente desecada á una temperatura de 30° próximamente, pudo infestar cobayas con tanta rapidez como con productos recientes. Dejando macerar y pudrir en el agua á la temperatura ordinaria pedazos de tejidos tuberculosos, durante un espacio de tiempo variable entre cinco y veinte días, sometiendo otros á congelaciones de—5° ó —8°, seguidas de deshielos sucesivos, se pudo producir una verdadera tuberculosis, perfectamente transmisible en series. Tales conclusiones contradicen absolutamente la opinión emitida por Baumgarten,

quien pretende que la putrefacción atenúa el virus tuberculoso, cuya actividad se debilita al cabo de algunos días, luego desaparece completamente. El desarrollo de otras especies puede, sin embargo, estorbar el del *bacilo tuberculoso,* que cede el paso á algunas cuya acción sustituye á la suya. Inoculando en conejos materias tuberculosas en putrefacción, Daremberg produjo una septicemia y ningún accidente tuberculoso. Esta observación condujo á diferentes experimentadores á ensayar la detención del *bacilo tuberculoso*, provocando en el lugar atacado, el pulmón sobre todo, la pululación de especies saprofitas, completamente inofensivas para el organismo. Los resultados de este método distan mucho de ser concluyentes.

La etiología de la tuberculosis es hoy fácil de establecer. La infección se verifica por la penetración de bacterias especiales en el organismo; sin embargo, sólo se produce en los individuos que presentan una predisposición particular hereditaria ó adquirida. Las vías de infección son diversas y el modo de desarrollarse la enfermedad parece estar en relación directa con el lugar de entrada del virus, puesto que las lesiones primitivas, á veces únicas, se encuentran cerca de ellos. La contaminación se verifica generalmente por las vías pulmonares ó el tubo digestivo. La experimentación prueba que se obtiene fácilmente en estos dos casos; basta hacer respirar á los animales aire en que se han pulverizado productos de cultivos, como también basta hacerles absorber, con sus alimentos, estos mismos cultivos ó productos tuberculosos, para que se vean rápidamente atacados de tuberculosis. Sin duda lo mismo sucede en la naturaleza. La espectoración de los tísicos contiene generalmente considerables cantidades de *bacilos tuberculosos* que se mezclan con el polvo en el cual conservan por mucho tiempo su vitalidad. Estos mismos bacilos pueden diseminarse muy lejos por diversos medios de transporte. Spillmann y Haushalter demostraron que las moscas, que se echan en enjambres sobre las escupideras de las salas de los hospitales en verano, se llevan multitud de bacterias, ya sea pegadas á sus tegumentos, ya sea introducidas en su intestino y atravesándolo sin gran alteración. Estos gérmenes, retenidos en suspensión en el aire, son aspirados con él, fijándose luego en las vías respiratorias, y si no se destruyen, pueden provocar en éllas sus manifestaciones mórbidas. Resulta de los experimentos de Cadéac y Malet que el estado en el cual se encuentra la materia virulenta cuando entra en el aparato respiratorio influye considerablemente en los resultados. Mientras que la aspiración de polvo seco que encierra *bacilos tuberculosos* no ocasiona sino rara vez la tuberculosis, la penetración en las vías respiratorias de esas mismas bacterias mezcladas con líquidos, sea por pulverización, sea por introducción directa, vuelve constantemente tísicos los animales sobre que se experimenta. Se sabe que todos los gérmenes contenidos en el aire inspirado se fijan en los bronquios ó los pulmones; el aire espirado carece simplemente de gérmenes; Cadeac y Malet, Straus, lo demostraron para diversas enfermedades contagiosas, en particular la tuberculosis.

La inoculación por la vía intestinal, muy fácil de producir experimentalmente, debe ser frecuente también en la naturaleza. Chauveau ha anunciado su posibilidad desde 1868. Después, numerosos experimentos hechos con productos tuberculosos ó cultivos, confirmaron estos resultados. Estos hechos tienen una importancia higiénica considerable. Demuestran, en efecto, que la alimentación puede desempeñar un gran papel en la transmisión de la tisis. Ahora bien, un gran número de productos de alimentación, procedentes de animales tuberculosos pueden contener el *bacilo de la tuberculosis;* los que están en primera fila son: visceras, hígado, bazo y pulmones principalmente; después, cuando la tuberculosis se generaliza, los músculos y productos de secreción, la leche sobre todo. Las carnes tuberculosas, admitidas con demasiada facilidad todavía en el consumo, conservan toda su potencia virulenta, aun después de una cocción moderada, como lo demostraron los ya citados, experimentos de Galtier. La tuberculosis es generalmente difícil de reconocer en ellas, á causa de la poca diseminación y de la poca extensión de las lesiones y del transporte, operado antes, de todo lo que es suscepti-

ble de atraer la atención del inspector, que no puede decirse con toda seguridad cuando no tiene á su disposición los órganos en que las localizaciones se muestran con evidencia. La leche encierra á menudo *bacilos tuberculosos;* es muy probable que se le deban referir gran parte de las tuberculosis de las vías digestivas, tan frecuentes en los niños de la primera edad. Según los experimentos de Nocard, la leche no puede contener bacilos, sino cuando existen localizaciones tuberculosas en las tetas. La tisis de las vacas, muy común en los animales sometidos á la estabulación, en la mayor parte de las lecherías por consiguiente, sólo tiene una marcha muy lenta; los animales atacados pueden guardar todas las apariencias de salud durante seis meses ó un año al menos, y permanecer todo este tiempo buenas lecheras. Sólo en un período adelantado es cuando la enfermedad no puede esconderse, cuando la contaminación pudo hacerse en grandes proporciones.

La transmisión puede hacerse por inoculación directa sobre la piel ó las mucosas; algunos *tubérculos anatómicos* pueden reconocer este origen. Este modo de infección es, no obstante, bastante raro.

Finalmente, hay algunos sujetos que, al parecer, nacen tuberculosos. El paso de los *bacilos tuberculosos* en la placenta y la producción de tubérculos en los fetos de cobayas hembras tuberculosas fué probada por Koubassoff. Weigert señaló la presencia de estos bacilos en la esperma de individuos tuberculosos, lo que suministraría un gran dato para la historia de la herencia de la tuberculosis.

Las condiciones de receptividad, poco conocidas todavía, deben desempeñar un gran papel en la transmisión de la enfermedad; existen predisposiciones que á menudo sólo se desarrollan accidentalmente. Estas predisposiciones influyen no sólo en la evolución general de la enfermedad, sino también en las localizaciones que produce.

Las lesiones características son las granulaciones tuberculosas, que pueden encontrarse en casi todos los órganos. Se encuentran en la masa central, que puede padecer de necrosis, proporciones variables de bacilos característicos libres ó contenidos en el interior de las *células gigantes,* tan constantes en la tuberculosis (fig. 118), que para Weigert, son únicamente producidas por la irritación que causa la presencia de bacterias en una célula. Cuando la necrosis continúa produciéndose, la lesión se extiende y puede tomar entonces grandes proporciones. Así es como se forman las *cavernas* en los pulmones tuberculosos cuyas paredes internas están tapizadas de masas caseosas más ó menos espesas, en las que se encuentran en gran abundancia los *bacilos tuberculosos* (fig. 122 *a*). Este es el proceso de necrosis que pone en libertad los bacilos en la secreción de los órganos atacados, y principalmente en los esputos, en la tisis pulmonar. Allí se les encuentra ora escasos, ora en gran número, formando verdaderas masas; sólos ó con más frecuencia con otros de los que se distinguen por su menor resistencia á la decoloración, muy á menudo con el *micrococcus tetragenus* que se encuentra igualmente sobre las paredes de las cavernas (fig. 101).

Se encuentra también el *bacillus tuberculosis* en varias otras enfermedades que hasta ahora se han referido por unanimidad á la tuberculosis, los abcesos fríos de las caries óseas, una variedad de osteitis crónica, enfermedades cutáneas, el lupus tuberculoso entre otros, en donde la acción necrótica del parásito aparece siempre evidente. En los casos de supuraciones prolongadas, los bacilos pueden ser muy raros, difíciles de encontrar en el pus; las inoculaciones y los cultivos pueden entonces prestar más servicios que el examen microscópico.

La tuberculosis espontánea es frecuente en el hombre, en el cual produce síntomas diversos según las localizaciones que ocasiona. Es frecuente en la vaca, en la cual ataca á menudo en el pulmón y la teta. Se le observa con caracteres semejentes en el caballo, el carnero, la cabra. La tuberculosis del cerdo desarrolla principalmente grandes focos caseosos en el pulmón; los ganglios del cuello están hinchados, y existen á menudo tubérculos en los músculos. Se producen en los gallineros verdaderas epidemias de tuberculosis, cuyo origen puede explicarse por la observación de que gallinas que han tragado esputos tuberculosos, de los cuales se muestran ávidas, mue-

ren tísicas. En estas aves, los tubérculos se reconcentran sobre todo con gran abundancia en el hígado, que se consume á menudo suficientemente cocido y puede comunicar la infección. Los monos criados en nuestro país mueren la mayor parte de las veces tísicos; en ellos el pulmón es el principalmente atacado. La tuberculosis espontánea es muy rara en el conejo y la cobaya, y sin embargo, estos animales son muy aptos para contraer la tuberculosis experimental; Koch pudo observarla una vez en un conejo silvestre. Por inoculaciones la ha logrado igualmente en los gatos, las ratas, los ratones y los gorriones. Los perros resisten más; se debe emplear para ellos mucha más materia virulenta.

Todas estas particularidades conocidas encuentran su aplicación en la profilaxia de esta terrible enfermedad. Los esputos de los tísicos deben ser desinfectados con cuidado al agua hirviente ó con una fuerte solución de ácido fénico. La carne, y sobre todo los órganos de los animales tuberculosos, deben ser objeto de una prohibición absoluta; las autoridades á quienes incumbe este servicio deben recordar que la menor negligencia puede poner en juego la vida de varios hombres. Es preciso elevar una barrera enderredor de la fuente de contagio.

Bacillus lepræ A. Hansen.—A. Hansen señaló en los tejidos leprosos la presencia de un bacilo que consideraba como específico. Esta misma bacteria fué estudiada por otros observadores, particularmente por Neisser, Leloir, Unna, quienes completaron su historia.

En la piel, al nivel de los tubérculos leprosos recientes, debajo de la epidermis que permanece normal, se encuentra la dermis infiltrada de grandes células redondas llenas de bacilos (fig. 123). Se puede hacer constar su presencia en la sangre, donde son libres ó están encerrados en los glóbulos blancos. Son numerosos en las partes invadidas, principalmente en el testículo, el bazo, el hígado, los ganglios linfáticos; Sudakewitsch describió algunos en el interior de las células nerviosas, en los casos de lepra anestésica.

Son dichos bacilos finos palitos que miden por término medio de 5 μ á 6 μ de longitud por una anchura de menos de un μ, rara vez rectos, generalmente ligeramente encorvados (fig. 124). La mayor parte de los observadores los consideran como completamente inmóviles; Babès los considera algo móviles. Muchos presentan una zona gelatinosa periférica hialina, que no se colorea, una especie de cápsula. El aspecto es muy semejante al del *bacilo de la tuberculosis;* se colocan tan bien como él por el método de Ehrlich, pero también fácilmente con las soluciones acuosas ordinarias, lo cual no sucede al primero. Además, resisten mejor todavía los descolorantes; según Babès, el ácido nítrico al tercio no les ha descolorido después de una hora, mientras que al cabo de este tiempo, los bacilos de la tuberculosis son siempre decolorados; de ahí la posibilidad de distinguir fácilmente estas dos especies y de obtener en ellas las dobles coloraciones. En los bacilos coloreados, se observan á menudo bacuolas irregulares, semejantes á las que presenta el bacilo de la tuberculosis. Se forma á menudo, sobre todo en las extremidades, abultamientos que se consideran como esporos. Estos abultamientos, miden 2 μ de diámetro, son en número de dos ó tres; en el primer caso, están situados en las extremidades de un palito que toma la forma de un balancín.

Neisser describió cultivos sobre suero sanguíneo, alcanzados inmergiendo en la superficie de la jalea un fragmento de piel leprosa. Bordoni-Uffreduzi los obtuvo más hermosos usando medios con glicerina, introducidos en la técnica por Nocard y Roux, para el *bacilo de la tuberculosis*.

El crecimiento del *bacillus lepræ* es muy lento; como en la especie precedente, sólo se verifica á una temperatura elevada, la mejor es de 37°-38°.

Sobre suero glicerinado y peptonizado á 37°, se forma lentamente una colonia listada, con bordes sinuosos, de color ligeramente amarillo. El medio nunca es licuado. Cuando existe líquido en la parte de declive del tubo, el cultivo se desarrolla en él un poco dejando el líquido claro.

Sobre gelosa glicerinada á 37°, se desarrollan, á lo largo de la estría, pequeñas colonias redondas, grisáceas con bordes dentados, que pueden confluir después de un tiempo muy

largo. Puede producirse una colonia compacta, como la precedente, cuando uno se sirve de una gran cantidad de substancia de inoculación.

Sobre placas de gelosa glicerinada, se obtienen á 37° pequeñas manchas filamentosas, redondeadas, grisáceas, más compactas, formadas de filamentos sinuosos dispuestos en finas redecillas (fig. 125).

Sobre clara de huevo cocida, Neisser observó, al cabo de tres semanas, pequeñas colonias prominentes, del tamaño de un grano de mijo, rodeadas de una zona marginal hialina.

Las de los primeros cultivos no se desarrollan nunca sobre gelatina ó sobre patatas; las de las generaciones siguientes crecen en estos medios. Se forman, sobre gelatina, á 20° ó 25°, pequeñas colonias redondas aisladas, en la superficie y en el canal de la picadura. La jalea, según parece, no es licuada.

Las inoculaciones experimentales todavía no han dado ningún resultado cierto. Melcher y Orthmann obtuvieron sobre los conejos, lesiones que no se distinguen fácilmente de las de la tuberculosis. Damsch no fué mucho más afortunado.

El carácter contagioso de la enfermedad está sin embargo fuera de duda; se transmite de hombre á hombre, pero cuando existen probablemente condiciones de receptividad todavía poco conocidas, pero entre las cuales la miseria social, la alimentación defectosa, la falta de cuidados deben desempeñar un gran papel.

Se ha buscado en vano el *bacilo de la lepra* en el aire, en el agua, en diferentes substancias alimenticias del país en que la enfermedad es endémica, como Noruega y ciertas comarcas del Oriente.

Bacillus typhosus Eberth.—Coze y Feltz describieron en la sangre de los individuos enfermos de fiebre tifoidea, palitos móviles, que miden de 2 μ á 5 μ de longitud por 0'4 μ de ancho, unidos á menudo en cortas cadenitas de tres á cuatro elementos. Eberth encontró, en los ganglios linfáticos y el bazo de atacados de tifus, una bacteria que por su constancia y la fijeza de sus caracteres le parece que está en relación directa con la enfermedad. No pudo, sin embargo, suministrar prueba alguna de ello. A Gaffky cabe, indudablemente, el honor de haber precisado los caracteres morfológicos y las condiciones de desarrollo del *bacilo del tifus,* de haber perfectamente establecido las reglas que deben seguirse para hacer constar su presencia y aislarlo en cultivos puros. Otros observadores han venido á confirmar los resultados anunciados por este último, añadiendo á ellos interesantes detalles; los estudios de Chantemese y Widal han dado á conocer puntos de la mayor importancia, tanto para la historia natural de este parásito como para la etiología de la enfermedad de que es causa.

Los elementos del *bacillus typhosus* son palitos con extremos redondeados, que tienen por término medio de 2 μ á 3 μ de largo, por 0'7 μ ó 0'9 μ de ancho. El contenido es homogéneo, hialino; á veces, en los cultivos adelantados principalmente, se apercibe en el centro un espacio claro, una vacuola ovoidea (fig. 126), que fué sobre todo señalada por Artaud y considerada por muchos como un esporo. La mayor parte de las veces los palitos que presentan este aspecto se hinchan ligeramente en su parte media, lo cual aumenta todavía la ilusión. Esta forma es debida á la retracción del protoplasma que se condensa en los dos polos; se encuentra, por lo demás, en muchas otras especies y nada tiene de característica. Las dimensianes, cuyo término medio hemos dado, varían según el medio de cultivo. En los caldos, los palitos se vuelven más delgados; en los medios sólidos son más espesos; en cultivos sobre patatas, se los puede ver como forman filamentos bastante largos (fig. 127).

Estos bacilos están animados de un movimiento activo; los palitos atraviesan á menudo con rapidez el campo del microscopio; los filamentos casi sólo presentan una especie de reptación.

El *bacilo del tifus,* si bien que se colorea por los procedimientos habituales, no absorbe de un modo muy intenso los colores de anilina. Se decolora por el método de Gram.

La formación de esporos fué bien descrita por Gaffky. Las bacterias que se producen rara vez, en los cultivos sobre patatas que han dejado duraren cuatro ó cinco días á una tem-

peratura de 38° á 40° son esféricas ó ligeramente ovoideas; se forma en uno de los extremos del palito, que se hincha un poco en este punto (fig. 128). La formación de esporos puede empezar á los 19°, y sigue hasta los 43°. Los cultivos que los contienen resisten fácilmente una temperatura de 90°, y son siempre estériles cuando se les ha mantenido á 100°.

El *bacilo del tifus* se cultiva fácilmente en los medios habituales. El desarrollo se verifica bien á baja temperatura, y según Seitz, es ya sensible á 4°. El óptimum de temperatura estaría, según Chantemesse y Widal entre 25° y 35°; la vegetación no se detiene hasta 46°. Esta especie no es exigente bajo el punto de vista del oxígeno; según Roux, es un anerobio facultativo; se han visto cultivos en el caldo, que crecían lentamente en el vacío bastante perfecto obtenido por medio de una trompa de agua. Los cultivos conservan largo tiempo su vitalidad; todavía son fértiles después de más de diez meses. Resisten una desecación prolongada, lo cual quizás sea debido á una formación de esporos.

En cultivos sobre placas de gelatina, las colonias aparecen á las veinticuatro ó cuarentiocho horas, como pequeños discos redondeados, transparentes, de tinte ligeramente amarillo, con bordes distintos. Aumentando de diámetro, muestran á menudo surcos bien marcados y regulares, que fragmentan la superficie, de la periferia al centro, en sectores desiguales. Esta última particularidad nada tiene de especial, sino que, por el contrario, se la encuentra en otras muchas especies. Las colonias que permanecen en el interior de la jalea se desarrollan poco; en general conservan los caracteres que hemos enunciado. Las que llegan á la superficie cambian muy á prisa de aspecto; allí se ostentan en pequeñas masas irregulares, delgadas, azuladas, irisadas, transparentes, que pueden compararse con gotitas de gelatina que se hubiesen cuajado inmediatamente cayendo una sobre otra desde gran altura. La dimensión de estas colonias varía; del tercero al quinto día, á una temperatura de 15° próximamente, alcanzan de dos á tres milímetros de diámetro (figura 129). Son éstas, pequeñas masas hialinas, con bordes delgados sinuosos, que presentan á menudo verdaderos golfos, cuyo centro, que sobresale, es un poco más opaco. La superficie no es más regular, sino accidentada. Cuando la superficie de la capa de jalea empieza á desecarse, la colonia se aplasta y entonces todas esas especies de circunvoluciones se vuelven más pronunciadas, con prominencias más distintas, pero este ya no es el estado normal. La gelatina no es licuada. Las colonias no alcanzan nunca un gran desarrollo; cuando han adquirido de tres á seis milímetros de diámetro, permanecen estacionarias.

Cultivada esta bacteria en un tubo de gelatina, en picadura forma en el canal pequeñas colonias de un blanco amarillento, pegadas entre sí, y en la superficie una tenue película transparente ó algo opaca, que puede extenderse hasta las paredes del tubo ó formar un cultivo más espeso, localizado cerca de la picadura. En estría, los caracteres son menos constantes todavía. Ora de una delgada capa homogénea, azulada, casi transparente, un poco lechosa, con bordes sinuosos, que sólo se extiende un poco por cada lado de la estría, ora un cultivo de un color blanco sucio, más espeso. Algunos autores juzgan estas variaciones de aspecto como diferencias en la composición del medio. Los cultivos nunca desprenden olor. Estas colonias se destacan fácilmente de la superficie de la jalea. Cuando se quita completamente un cultivo, y se siembra con nueva materia de inoculación el lugar que aquel ocupaba, no se observa ningún desarrollo; esta gelatina es *vacunada,* dicen Chantemesse y Widal. El hecho es frecuente; puede observarse en muchas especies cromógenas, como el *bacillus violaceus,* el *micrococcus prodigiosus,* etc.

Sobre gelosa y principalmente sobre gelosa glicerinada, la vegetación es mucho más abundante, se obtiene al cabo de algunos días, á unos 37°, un cultivo blanco, homogéneo, bastante espeso, de aspecto caseoso, á veces un poco nacarado.

Sobre suero, se forma sobre la estría, que se extiende poco de cada lado, una faja blanca con reflejos grises.

Los cultivos sobre patatas son mucho más característicos. Son un complemento indispensable en todo estudio del *bacilo tífico.* La

inoculación puede hacerse en estría ó extendiendo por la superficie del pedazo la materia de inoculación por medio del plano de un escalpelo esterilizado. Al cabo de uno ó dos días, en la estufa, no se ha producido cultivo aparente; la superficie de la patata parece húmeda y brillante. Rascando la capa superior se quita una especie de capa mucosa que encierra partículas del tubérculo, la cual examinada al microscopio deja ver una cantidad de bacterias. Después de algún tiempo, se forma una delgada capa amarillenta, á veces difícil de ver, y á veces se observa una especie de vidriado algo prominente. Gaffky da también como característica la sensación especial que ofrece al tocar la superficie de la patata; se comporta como si estuviese cubierta de una membrana muy resistente. Estas particularidades varían por lo demás un poco según la variedad de patata empleada; la mejores son las denominadas grasas. Se sabe que en este medio, los bacilos son un poco más anchos y dan fácilmente filamentos. En él se forman esporos, en cuarentiocho horas en estufa, y más lentamente á 25°.

En el caldo, el desarrollo es rápido de 30° á 35°; en un día el líquido es completamente enturbiado. Se deposita un sedimento blanco y ligero.

La leche es muy buen terreno de cultivo, en ella se desarrolla el *bacilo tífico* sin ocasionar ningún cambio visible al medio.

Brieger extrayó de viejos cultivos de *bacilo tífico* una tomaina de acción tóxica, que el denomina *tifatoxina* y que sólo existe en proporciones sumamente pequeñas en los cultivos. Los principales síntomas determinados en las cobayas por su inoculación en dosis mínimas son: una debilidad excesiva, una disminución progresiva de las pulsaciones del corazón y de la respiración y una diarrea muy abundante. La muerte sobreviene al cabo de doce á cuarentiocho días.

Este bacilo es abundante en los órganos de los atacados de tifus. En la autopsia, Gaffky lo encontró 26 veces en 28 casos, Seitz 20 veces en 24, en preparaciones de hígado, de ganglios mesentéricos y de bazo sobre todo. Los cortes coloreados en la solución de Löffler al azul de metileno ó con la solución de Ziehl muestran pequeñas masas de bacterias (figura 130), que es muy difícil distinguir de las especies comunes en las putrefacciones; deben, no obstante descolorirse por el método de Gram. Los cultivos hechos en diferentes órganos según los procedimientos indicados dan resultados mucho mejores. El estudio es siempre fácil eligiendo con preferencia el hígado ó el bazo. Fränkel y Simmonds lo han encontrado 25 veces en 29 autopsias. Chantemese y Widal 11 veces en 12. En un vaso lavado con cuidado ó sublimado y rodeado de un lienzo empapado del licor de Van Swieten, se hace en un día ó dos, una pululación abundante del bacilo que se encuentra entonces en cantidad mucho mayor. Este es un medio que se puede aprovechar para aislarlo más fácilmente. El *bacilo tífico* es más difícil de distinguirlo en un sér vivo. Es raro en la sangre de la circulación periférica. Neuhauss lo aisló 9 veces en 15 casos de la sangre de manchas rosadas. La sangre obtenida por punción del bazo da casi siempre resultados positivos durante el período de la enfermedad y constantemente negativos cuando el enfermo ha entrado en la convalecencia. La operación no presenta ningún peligro; se verifica con un largo trócar capilar, usando todas las precauciones antisépticas. Wyssokowitsch dió la prueba de estos hechos en una serie de experimentos. Después de haber inyectado substancia de un cultivo puro de *bacilo tífico* en las venas de conejos que él sacrifica al cabo de dieciocho horas, nunca encontró bacilos en la sangre del corazón, pero siempre y en gran cantidad en el bazo y la médula de sus huesos, que lo almacenarían por decirlo así, según él. Chantemesse y Widal reconocieron la presencia de este bacilo en la sangre de la placenta en un caso de aborto al cuarto mes de embarazo; Neuhauss, en el hígado y el bazo de un feto, en circunstancias análogas.

Bouchard señaló su presencia en la orina de atacados de tifus, pero sólo en los casos en que la orina encerraba albúmina retráctil, indicio de una lesión renal que había permitido á las bacterias pasar á la orina.

Chantemesse y Widal no obtuvieron nada de la leche de dos nodrizas atacadas de fiebre tifoidea, de sudamina diluída, ni de los espu-

tos de enfermos atacados de bronquitis intensa.

Las investigaciones del *bacilo tífico* en las deposiciones han sido por mucho tiempo estériles. Existen, en efecto, en las deyecciones, tan gran número de bacterias, aun en estado normal, que la cuestión se vuelve muy compleja. Muchas de estas especies licuan rápidamente la gelatina, destruyendo muy pronto los cultivos sobre placas, inconveniente que ha obligado á buscar el medio de remediarlo. Chantemesse y Widal propusieron una modificación muy sencilla, que da excelentes resultados. Recomiendan añadir al volumen de gelatina empleado para la confección de una placa, una decena de centímetros cúbicos próximamente, cuatro ó cinco gotas de solución de ácido fénico al 5 por 100. Esta proporción de antiséptico basta para detener ó hacer más lento el crecimiento de las colonias que licuan la gelatina, mientras que no perjudica en nada al desarrollo del *bacilo tífico,* menos sensible que los primeros. Según Wyssokowitsch, el parásito no aparecería en las materias fecales hasta que la ulceración de las placas de Peyer le permitirían el paso al intestino.

Las complicaciones que sobrevienen con tanta frecuencia en el curso de la fiebre tifoidea, tales como erisipelas, gangrenas, abcesos, se deben á *infecciones secundarias* independientes de la infección primitiva, causa de la enfermedad. Son producidas por la penetración y desarrollo en el organismo de las bacterias especiales á estos estados patológicos. Fränkel, Artaud, Chantemesse y Widal observaron, no obstante, *bacilos tíficos* en el pulmón, en algunos casos de branco-pneumonías ó de pneumonías tifoideas. Según Fränkel, las ulceraciones tifoideas de la laringe ó de la faringe se deben á una infección secundaria; jamás encontró en ellas el *bacilo tífico,* pero sí el *micrococcus pyogenes aureus* y un bacilo diferente del primero.

Para dar la prueba absoluta de las relaciones directas de causalidad que existen entre una bacteria y la enfermedad en la que se le ha observado, es preciso, según sabemos, reproducir la enfermedad primitiva por la inoculación de cultivos puros. Aquí se presenta una gran dificultad; ninguna de las especies animales que sirven en los laboratorios y en las cuales se tiene ocasión de experimentar, contrae la fiebre tifoidea; ninguna enfermedad de las conocidas por los veterinarios ofrece las lesiones intestinales características. La fiebre tifoidea del caballo sólo tiene de común el nombre con la enfermedad humana; además de que Cornil, á pesar de sus numerosas investigaciones, no pudo aislar el *bacilo tífico* del hígado ó del bazo de caballos que habían sucumbido de ella.

Los primeros experimentadores, inoculando sangre, de los desperdicios de órganos, ó de las materias fecales, producían verdaderas septicemias, acompañadas, como de ordinario, de un hinchamiento más ó menos pronunciado de las placas de Peyer.

Gaffky, en numerosos experimentos hechos sobre especies animales muy variadas, sólo obtuvo resultados negativos. Fränkel y Simmonds determinaron en conejos, cobayas y ratones domésticos, por medio de inyecciones intravenosas ó intraperitoneales de cultivos puros, una hipertrofia del bazo y de los ganglios mesentéricos é hinchamiento en las placas de Peyer; los cultivos demuestran la presencia de *bacilos tíficos* en estos órganos. Seitz determinó síntomas análogos á los precedentes, inyectando deyecciones de atacados de tifus y cultivos puros en el intestino de cobayas, preparadas según un método de Koch para la infección colérica, en las cuales se había inyectado al estómago una débil dosis de tintura de opio y una solución de carbonato de sodio.

Sirotinin, Beumer y Peiper, por el contrario, pretenden que las lesiones así producidas no son consecuencia directa de la vegetación del *bacillus tiphosus* en el organismo, sino que son efecto de la intoxicación por una tomaina, que quizás sea la que fué aislada por Brieger, la tifotoxina.

Según Kilcher, se debe separar la parte de la acción de la tomaina y la de la bacteria patógena. La tomaina puede obrar muy aprisa y ocasionar la muerte antes que las lesiones características, causadas únicamente por los bacilos, hayan podido aparecer. Es evidente que en el primer caso no suelen encontrarse *bacilos tíficos.*

Para Chantemesse y Widal hay una verdadera infección, pero que produce síntomas distintos de los observados en el hombre, que recuerdan más bien los de ciertas septicemias. Los ratones blancos son muy sensibles y sucumben rápidamente, en treintiséis horas, con un bazo hinchado, las placas de Peyer entumecidas y una diarrea líquida; son sensibles á los solos productos solubles segregados por las bacterias, que contienen los cultivos esterilizados; pero se deben emplear grandes dosis para ocasionar la muerte, mientras que una cantidad mínima de cultivo la causa. Esto prueba que el *bacilo tífico* vive en el cuerpo de los ratones y segrega su veneno; esto basta para decir que hay infección.

Finalmente, una conclusión de las más importantes, anunciada por los últimos autores citados, es que los ratones que han sido inoculados primero con caldos de cultivos previamente esterilizados y que resistieron, se vuelven refractarios á las inoculaciones más virulentas. La substancia tóxica segregada por la bacteria, disuelta en el caldo, confiere una verdadera inmunidad; puede vacunar el organismo.

En las autopsias tíficas el bacilo especial se encuentra constantemente en el hígado, el bazo, los ganglios mesentéricos y las placas de Peyer; Chantemesse y Widal lo encontraron en las meninges cuatro veces en ocho investigaciones, seis veces en los pulmones atacados de bronquitis ó de pneumonía tifoideas, dos veces en las paredes del corazón, y una vez en los testículos. Nunca pudieron aislarlo de la sangre de un cadáver, apesar de sus muchas tentativas; Fränkel y Simmonds lo lograron una vez.

Fuera del organismo atacado, el *bacilo tífico,* hasta ahora, sólo ha sido encontrado en el agua, lo cual es una prueba verdaderamente irrefutable del papel que el agua, de bebida sobre todo, debe desempeñar en el contagio de la fiebre tifoidea; no se puede por esto sostener que sea éste el único modo de propagación de las epidemias, sino que por el contrario es más racional admitir la posibilidad de otras vías. Pero se tiene el derecho de afirmar, basándose en hechos debidamente comprobados, que el agua es el agente más común de la propagación de esta enfermedad. Se pueden encontrar, en apoyo de esta opinión, pruebas completamente convincentes en la memoria de Chantemesse y Widal, y en la exposición magistral que Brouardel hizo de esta cuestión en el último congreso internacional de higiene de Viena.

La investigación del *bacilo tífico* en el agua presenta serias dificultades, debidas al gran número de bacterias que puede contener este líquido, de las cuales algunas, licuando muy aprisa la gelatina, no permiten el desarrollo de la primera, y á la presencia frecuente de especies con caracteres muy parecidos, difíciles de distinguir sin un estudio profundo. Para obviar el primero de estos inconvenientes, precisará, para los cultivos sobre placas, usar diluciones suficientes para obtener colonias perfectamente separadas ó, cuando existe una gran cantidad de colonias licuantes, emplear el método de Chantemesse y Widal que consiste en añadir al agua de estudio una débil cantidad de ácido fénico, un uno por 600 de agua próximamente.

Manteniendo los cultivos en una cámara húmeda entre 15° y 18° se ven aparecer en la jalea muchas pequeñas colonias desde el final del primer día. Para pronunciarse con una *probabilidad* bastante grande, es preciso dejar continuar el desarrollo hasta el tercero ó cuarto día, manteniendo los cultivos cerca 15°. Si la temperatura es más baja, el crecimiento es naturalmente más lento. Si hay *bacilos tíficos,* se aperciben entonces en la superficie de la jalea las pequeñas colonias transparentes, de aspecto particular (fig. 129), perfectamente irisadas, semejantes á pequeñas gotitas de vidrio y con la superficie muy accidentada El estudio se hace más fácilmente á simple vista que con un lente de aumento ó con el microscopio, sobre todo si se ilumina la superficie de la placa por reflexión, para acentuar mejor la irisación que hace distinguir rápidamente la colonia. Cuando las colonias son viejas, sabemos que su centro se vuelve opaco, toma un tinte algo amarillento; sólo la zona marginal conserva su delgadez, su transparencia y su tinte azulado.

Pero el solo aspecto de las colonias en cultivos sobre placas dista mucho de bastar para

establecer un diagnóstico cierto. En efecto, varias otras especies, abundantes en el agua, ofrecen caracteres parecidos y aún idénticos. Entonces se deben emplear todos los demás caracteres de forma y de cultivo.

El *bacillus subtilis,* muy común, forma también en la superficie de las placas pequeños islotes transparentes, pero su forma más plana, su coloración un poco amarilla, los distinguen fácilmente; además, del tercero al cuarto día, se ve el centro deprimirse y el borde desaparecer en la jalea de enderredor que se licua en poco tiempo.

El *bacillus coli commune* da colonias que tienen mucha analogía con las del *bacilo tífico;* consisten también en pequeñas masas, transparentes, con bordes irregulares, que no licuan la gelatina, pero son más amarillas y menos irisadas. Los palitos tienen la misma forma y las mismas dimensiones, pero son mucho menos móviles que los de nuestra especie. El cultivo sobre patata diferencia pronto las dos bacterias; el *bacillus coli commune* se desarrolla en ellas con abundancia y forma una capa muy espesa, amarillenta, ó de un matiz de puré de guisantes. Las dos especies pueden además observarse una al lado de otra; esto sucede con frecuencia en las aguas contaminadas por materias fecales, en que el *bacillus coli commune* abunda generalmente.

Una bacteria violácea, que Macé considera como el *bacillus janthinus* de Zopf, que tarda mucho en licuar la gelatina, da colonias absolutamente idénticas, en cultivos sobre placas, á las del *bacilo tífico*. Se la reconoce, pero sólo después de mucho tiempo, por el tinte violado de estos cultivos sobre gelatina. Sobre patata forma un tenue cultivo, húmedo y brillante, que se pulimenta más tarde.

Existe en el agua, con mucha frecuencia, una especie de *micrococcus* todavía no descrito, que puede prestarse á confusión á causa de la gran similitud de sus colonias. La forma de las células es un carácter suficientemente distintivo en el examen microscópico. El cultivo sobre patata es también más aparente y coloreado de gris amarillo.

Las colonias del *bacillus fluorescens putidus* al principio tienen también un aspecto semejante y no licuan la gelatina. Pero se extienden de ordinario mucho más en pocos días y pueden alcanzar hasta un centímetro de diámetro y además presentan una aureola verde, que se difunde en la jalea ambiente. Los cultivos sobre gelatina en tubos son más espesos y despiden olor de orina podrida. El cultivo sobre patata es delgado, brillante, viscoso; toma una coloración rosada y se forman en su masa burbujas de gas.

En resumen, cuando en los cultivos sobre placas se encuentra uno en presencia de colonias que cree poder referir al *bacilo tífico,* debe establecer su opinión en toda una serie de caracteres, puesto que no basta el solo aspecto de la colonia. Las dimensiones de los palitos y sobre todo sus movimientos deben ser primero examinados, su coloración con los colores de anilina, y la decoloración por el método de Gram suministrarán una nueva indicación. Los cultivos sobre gelatina ó caldo no son apenas característicos; debe sin embargo observarse que no despiden ningún olor y pueden hacerse al abrigo del aire. Los cultivos sobre patata son mucho más importantes; jamás se forma colonia bien aparente al principio, pero la superficie del corte se vuelve húmeda, brillante y á veces se cubre de una ligera capa mucosa. Precisa á menudo rascar ligeramente y examinar una partícula al microscopio para hacer constar en ella la presencia de los bacilos. El *micrococcus de la erisipela* presenta según Gaffky, una vegetación semejante sobre patata, pero el examen microscópico resuelve fácilmente las dudas.

El *bacilo tífico* puede vivir mucho tiempo en el agua y aun multiplicarse con abundancia, si las condiciones de temperatura son favorables, conforme lo demostraron los experimentos de Meade Bolton. Resiste fácilmente la congelación. No es muy exigente, al parecer, su materia orgánica; Macé la encontró dos veces con abundancia en aguas que sólo contenían pequeñas cantidades de materia orgánica, con cierta dosis de permanganato, y habían sido declaradas puras cuando el análisis químico. Chantemesse lo conservó vivo durante tres meses en agua de ribera estirilizada.

La conclusión que se saca de estos datos es,

que se debe evitar con el mayor cuidado la contaminación del agua de beber, por las materias fecales principalmente, que son ciertamente la causa habitual, y, en tiempo de epidemia no beber más que agua filtrada en aparatos seguros, el fieltro Chamberland en primera línea, ó agua hervida; sabemos en efecto que una temperatura de 100°, mantenida algunos minutos solamente, basta para esterilizar los cultivos de un modo seguro.

La posibilidad de la propagación del germen tífico por el aire cuenta todavía con gran número de partidarios. En el artículo de Brouardel anteriormente citado, se encuentra la relación de algunos casos de contagio que hacen esta opinión muy probable. Hasta ahora, sin embargo, nadie ha logrado aislar del aire el *bacilo tífico;* Chantemesse y Widal entre otros fracasaron, á pesar de estar en condiciones excepcionalmente favorables.

Bacillus septicus Pasteur.—Esta especie muy esparcida en la naturaleza, que fué entrevista por Coze y Feltz en sus estudios sobre la septicemia, fué aislada y obtenida en cultivos puros por Pasteur. Él la encontró en la tierra vegetal en donde estudiaba las *bacterias carbunclosas,* operando del modo siguiente: La tierra sospechosa, triturada con agua, se leviga con cuidado; el líquido se abandona de modo que se separen las partículas más pesadas, luego se decanta; el agua turbia se deja luego en reposo absoluto, y así se deposita un sedimento ligero; este depósito recogido se acidula ligeramente, luego se le calienta algunos minutos á 90°; la calefacción tiene por objeto matar la mayor parte de las bacterias ó los esporos que contiene. El depósito inyectado bajo la piel de cobayas las hace perecer á veces de una enfermedad carbunclosa que se reconoce por sus caracteres. Más á menudo el animal muere con síntomas completamente especiales, los de una septicemia de marcha muy rápida, que ocasiona la muerte en veinticuatro á treintiséis horas de ordinario. Las lesiones pueden ser considerables. En el lugar de la inoculación se desarrolla un edema que puede tomar grandes proporciones y extenderse por las regiones vecinas; el tejido conjuntivo es enfisematoso, encierra en ciertos puntos, en los sabacos ó las ingles principalmente, verdaderas bolsas gaseosas. El hígado y los pulmones están pálidos; el bazo es difluente. Esta terrible emfermedad se debe á la pululación en el organismo de una bacteria en palitos cuyos esporos estaban contenidos en la tierra empleada, y á la cual Pasteur dió el nombre de *vibrión séptico,* que convirtiéndose en *bacillus septicus,* debe ser conservada con perferencia á las demás, en vista de su derecho incontestable de prioridad.

Se encuentran estos palitos en gran cantidad en la serosidad del edema; son también muy numerosos en el jugo muscular y la exudación peritoneal. Son más difíciles de apercibir en la sangre, en donde pueden ser raros y estar dispuestos en largos filamentos flexibles; algún tiempo después de la muerte, el número ha aumentado mucho. Todos se colorean fácilmente por los colores de anilina y se decoloran tratándolos por el método de Gram.

Las bacterias de la serosidad del edema tienen una forma análoga á la del *bacillus anthracis* de la sangre carbunclosa, pero tienen los extremos perfectamente cuadrados. Tienen por término medio 3 μ de largo, por un μ de ancho y están aislados ó reunidos por pares ó más en cadenas (figs. 131, 4); presentan movimientos bien evidentes. Los que se encuentran en la sangre, sobre todo, pueden formar filamentos de 15 μ á 40 μ de longitud en que las articulaciones son poco visibles (figuras 131, 5); el movimiento de los filamentos es más lento, flexible. En los artículos separados se forman con frecuencia esporos, los cuales nunca se observan en los filamentos, lo cual sirve todavía para distinguir esta especie del *bacillus anthracis.* Los artículos que van á esporular se hinchan en un punto, el cual ora es el centro y el palito toma la forma de huso, ora un extremo y toma la forma de una maza ó de un renacuajo. En el punto en que se produce el hinchamiento, aparece una mancha clara que se convierte en un esporo ovoideo, muy refringente, de color azulado.

Los cultivos son bastante difíciles de obtener. El *bacillus septicus* es un verdadero anerobio y exige para vegetar un medio completamente desprovisto de oxígeno; la presencia

de este gas mata rápidamente las células vegetativas, impidiéndoles hasta de esporular. Los esporos, por el contrario, pueden ser impunemente expuestos al aire, pero para que germinen no debe haber oxígeno. El cultivo debe pues hacerse en el nitrógeno, el hidrógeno ó el ácido carbónico.

Teniendo en cuenta estas exigencias particulares, se ha llegado á hacer crecer el *bacilo séptico* en los diversos medios usuales. Pasteur dió los caracteres de cultivos sobre caldos; Liborius y Roux los de los cultivos en medios sólidos.

Estos cultivos se hacen lentamente á la temperatura ordinaria y mucho más aprisa á 37°; en este último caso ya se pueden encontrar esporos al final del primer día. Los palitos de los cultivos nunca permanecen asociados en largos filamentos como en la sangre; además no presentan movimientos tan distintos como ofrecen los del organismo.

En caldo á 37° el desarrollo es rápido; de doce á veinticuatro horas bastan para enturbiar el líquido. Se desprende ácido carbónico é hidrógeno en volúmenes sensiblemente iguales, y, según Pasteur, un ligero hedor fétido; la reacción del medio no cambia. El caldo se aclara poco á poco; se forma en el fondo del vaso un ligero depósito. Muchos palitos forman esporos.

En cultivos en la gelosa, que se solidifica en tenue capa sobre las paredes de un tubo ancho, se aperciben las colonias, á simple vista, como pequeñas manchas blanquecinas, con bordes bien distintos, que se pierden en la jalea. Con un aumento de 80 á 100 diametros, se reconoce en la colonia una parte central homogénea de donde parten numerosas arborizaciones que se pierden en la jalea ambiente (fig. 132). El tubo debe estar lleno de hidrógeno ó ácido carbónico.

Se puede llegar á obtener cultivo en tubo por un procedimiento más sencillo. Haciendo penetrar la materia de inoculación hasta el fondo del tubo, se logra, favoreciendo la acción de la jalea en las capas superiores, substraer las capas profundas de la masa á la acción del oxígeno. Si han quedado esporos, podrían germinar, encontrando las condiciones necesarias. Pero, todavía con la condición de tener privado el medio de aire sometiéndolo á una ebullición previa, las colonias sólo se forman á una gran distancia de la superficie, 3 centímetros próximamente, en el punto en que el oxígeno no puede penetrar por difusión. El éxito es más seguro si se hace la siembra en la jalea hervida y enseguida enfriada en una atmósfera de ácido carbónico y que se vierte después de la operación, una capa de aceite de 1 ó 2 centímetros de altura, que impide todavía la acción del aire. En estas condiciones, se puede observar el desarollo en casi toda la altura del medio. Se usan con más comodidad los aparatos de Roux ya descritos.

En un tubo de gelatina preparado como acabamos de indicar, se observan, al cabo de dos ó tres días á 20°, pequeñas esferas, de medio á un milímetro de diámetro, llenas de líquido claro, que se forma principalmente en la parte inferior del tubo (fig. 73). El líquido muy claro al principio, se enturbia y muestra en la superficie una fina estriación radial, ó ligeras ramificaciones, bien visibles con un débil aumento (fig. 133). En gelosa se produce un enturbiamiento muy ligero á lo largo de la picadura y pequeñas colonias esparcidas en la jalea. Estas colonias (fig. 134) presentan un fino retículo, que recuerda el representado en la figura 132.

Gaffky obtuvo cultivos sobre patata. Según él, los bacilos penetran á gran profundidad en la substancia de la patata donde forman una red de apretadas mallas.

El suero sólido es rápidamente licuado.

Los caballos, los carneros, los cerdos, los conejos y las cobayas son muy sensibles á la inoculación y perecen al cabo de poco tiempo. Según Chauveau y Arloing, los bueyes resisten. En el perro sólo se produce una lesión local fácil de curar; un primer ataque hace los individuos refractarios. Las cobayas inoculadas mueren á menudo en menos de doce horas; toman rápidamente una actitud especial, se vuelven inquietas, su pelo se eriza, gritan cuando se les toca, su cuerpo es agitado de cuando en cuando por sacudidas convulsivas.

La septicemia debida á esta especie se observa con mucha frecuencia en el hombre; se

ha demostrado que las terribles enfermedades conocidas con los nombres de *septicemia gangrenosa* ó *gangrena gaseosa* son debidas al *vibrión séptico*. Si no ocasiona con más frecuencia complicaciones de llagas, se debe á que siendo un anerobio exclusivo no puede vivir en la superficie de los tejidos, sino solamente en su interior. Una parte de los casos de la enfermedad compleja conocida con el nombre de *enfermedad de los traperos* y de estas septicemias especiales que podrían agruparse bajo la denominación de *septicemias profesionales,* se deben á esta bacteria patógena; Krannhals la encontró exclusivamente en varios casos de la primera de estas manifestaciones mórbidas.

Roux y Chamberland lograron conferir á las cobayas una inmunidad absoluta para los virus más enérgicos, inyectándoles en la cavidad abdominal varias tomas de fuertes dosis de cultivos acabados, privados, con seguridad, de todo elemento vivo por una calefacción de 105°—110° durante diez minutos; los animales sufren ligeras enfermedades, su pelo se eriza, pero pronto vuelven al estado normal. Para vacunarlas con seguridad, es necesario inyectar al menos 120 centímetros cúbicos de caldos de cultivo, de seis á ocho días, en tres tomas, en tres días sucesivos. Este es un ejemplo muy notable de vacuna por substancias solubles procedentes del desarrollo de bacterias. El líquido que se utiliza se vuelve impropio para otros cultivos.

La serosidad del edema, tomado en animales muertos de septicemia, contiene probablemente las mismas substancias solubles que los caldos de cultivo, pero en cantidades mucho mayores. Si se inyecta, en efecto, en el peritoneo de una cobaya 30 ó 40 centímetros cúbicos de esta serosidad, desprovista de bacterias, por un filtro de porcelana, los efectos son bien distintos de los que se observan con el caldo de cultivo. El animal muere en pocas horas, con los síntomas habituales de la septicemia. Los accidentes se atenúan, sin embargo, disminuyendo las dosis; inyectando 1 centímetro cúbico de esta serosidad y haciendo siete ú ocho inyecciones sucesivas, se llega á conferir rápidamente una completa inmunidad. En todas estas cobayas, aun las que mueren á causa de inyecciones de fuertes dosis de serosidad, ni el examen microscópico, ni los cultivos permiten descubrir la presencia del *vibrión séptico*. Sin duda, á la reabsorción de estos productos solubles segregados por las bacterias se deben los casos de muerte muy rápida, observadas en ciertas septicemias gangrenosas, antes que la gangrena haya invadido una región suficientemente grande del cuerpo.

El área de dispersión de la especie es muy grande; se la encuentra, por decirlo así, en todas las substancias podridas, pero con gran abundancia, sobre todo, en las putrefacciones que se hacen al abrigo del aire. Es común en la tierra vegetal; á la presencia de estos esporos en la tierra se deben las complicaciones gangrenosas, casi siempre fatales, observadas á menudo en las llagas en donde penetraron de la tierra ó de las substancias podridas. Su presencia en gran abundancia, como hemos demostrado, en las conservas vegetales ó animales, ocasiona los accidentes rápidamente mortales observados recientemente por Poincaré, á causa de inyecciones subcutáneas de pequeñas cantidades de estas substancias. La ingestión por la vía intestinal no ocasiona accidentes á causa de la barrera opuesta por los epitelios que están intactos, y quizás á causa de la falta de esporos, puesto que las células vegetativas están muertas por el jugo gástrico. Esta es la causa que preserva al organismo de este peligroso huésped que, sin duda, debe existir en el contenido intestinal en estado normal, si bien que todavía no se ha podido aislar de él, pero se le encuentra tan á menudo en todo el cuerpo poco tiempo después de la muerte, que esto ha conducido á admitir su presencia en el intestino y su penetración en el organismo tan pronto como la muerte de las células permite su invasión.

Liborius aisló de la tierra de jardín, por inoculación á ratones, una bacteria semejante al *vibrión séptico,* á la cual atribuyó el nombre de *pseudo-œdembacillus*. Se distingue por un espesor un poco mayor, su vegetación sobre gelatina sin licuación y un desarrollo de gas, con olor de queso pasado.

Bacillus Chauvæi Arloing, Cornevin y Thomas.—Se incluía antes entre las enfer-

medades carbunclosas, al lado del verdadero carbunclo producido por el *bacillus anthracis,* una enfermedad contagiosa que se ceba principalmente en la especie bovina, que Chabert separó con el nombre de *carbunclo sintomático.* Arloing, Cornevin y Thomas hicieron de ella un estudio completo, y aun lograron asignarle como causa, el desarrollo en el organismo de una bacteria de la cual obtuvieron cultivos puros, por medio de los cuales se reprodujo, con todos sus caracteres, la enfermedad primitiva. Dieron á esta especie el nombre de *bacterium Chauvæi,* que se convierte en *bacillus Chauvæi* por no haber ningún carácter que le haga *bacterium,* ni aun en los casos en que este último género debiera conservarse.

La enfermedad, el *rauschbrand* de los alemanes, se ceba en ambos hemisferios, sobre todo en las regiones en que la pululación bovina, á la cual ataca con preferencia y diezma con frecuencia, es densa. En Francia se le observa principalmente en la región de los grandes pastos, en Auvernia, en el Delfinado, en Lemosín, los Bajos Pirineos; no es rara en los países del llano, las llanuras de la Lorena por ejemplo. Tiene un máximo en los meses más cálidos del año. Se le puede observar en los mismos puntos de las epizootias del carbunclo sintomático al mismo tiempo que el verdadero carbunclo; estas dos enfermedades han sido encontradas juntas en los mismos individuos.

El carbunclo sintomático es una enfermedad casi siempre mortal. Cuando se declara en los bueyes, las vacas ó los carneros adultos, el pronóstico siempre debe ser desfavorable. Por su marcha, se parece más á las septicemias que á las verdaderas enfermedades carbunclosas. El mal empieza por fiebre, una rigidez muscular, un temblor parcial; el animal se vuelve triste, la rumiación se detiene, siente escalofríos y un enfriamiento súbito; entonces el tumor característico aparece sobre un miembro. En los casos muy graves el tumor se desarrolla bruscamente antes de haber despertado la atención por síntomas generales. Este tumor, que se encuentra habitualmente en las grandes masas musculares, puede ser aparente ó bien estar escondido cuando tiene su asiento en el interior; se le encuentra sobre todo en la espaldilla, las ancas, la cruz, el pecho y el cuello (glossanthrax). Es un tumor irregular, mal circunscrito, que progresa con gran rapidez; en ocho ó diez horas puede alcanzar un desarrollo enorme. Muy doloroso á la presión y de consistencia homogénea, pastosa al principio, se vuelve poco á poco insensible y crepitante y aun sonoro á la percusión, lo que indica la presencia de gas en su interior. Al cortarle, su tejido, que es negro, friable, de donde procede el nombre de *carbunclo* (carbón), vierte primero sangre roja, luego sangre negra y, por último, serosidad rosada, espumosa. En las regiones muy ricas en tejido conjuntivo, el edema toma proporciones enormes; entonces vierte un líquido cetrino ó rosáceo. Cuando el tumor cesa de crecer, los síntomas generales se agravan, el animal se vuelve indiferente y cae en una adinamia profunda; la muerte llega al cabo de treintiséis á cincuentiséis horas después de los primeros síntomas. La cura es rara; excepcional en nuestras regiones.

En la autopsia, á parte de la lesión local, los órganos aparecen poco cambiados; el intestino es rojo, el hígado y el bazo son casi normales. La sangre es poco modificada.

Los tejidos del tumor, la serosidad que de él sale y los órganos enfermos encierran bacterias características. La sangre contiene muy pocas ó carece de ellas antes de la muerte; su número aumenta después. La bilis contiene cantidades considerables.

Consisten (fig. 103) en palitos rectos, que miden una longitud de 5 μ á 8 μ, con una anchura de un μ, aislados ó á veces reunidos en pares. Presentan una gran vivacidad de movimientos por los que se distingue fácilmente del *bacillus anthracis;* de ahí proceden las denominaciones de *carbunclo bacteriáceo* para la enfermedad debida al *bacillus Chauvæi,* opuesta á la de *carbunclo bacteridio* aplicada al carbunclo verdadero del *bacillus anthracis.* Muchos de los palitos encierran esporos. Los que van á producirlos se hinchan irregularmente ora en toda su longitud ora sólo en su centro tomando la forma de huso, ó en uno de sus extremos asemejándose á un renacua-

jo (fig. 103). La longitud de estos artículos esporíferos puede llegar á 10 μ, con una anchura de 1'1 μ á 1'3 μ; el esporo ovoideo llena comúnmente el tercio de la longitud del artículo, cuando ha guardado sus dimensiones normales. A menudo dos palitos reunidos producen al mismo tiempo sus esporos, que se encuentran entonces en los dos extremos opuestos. Esos palitos pueden rodearse de una delgada aureola transparente, en su totalidad ó sólo en su extremo hinchado.

Esta bacteria es una verdadera especie anerobia, por lo cual sólo puede cultivarse al abrigo de oxígeno del aire, en una atmósfera de ácido carbónico, por ejemplo. Los medios sólidos jamás dieron, al menos hasta ahora, resultados. Los cultivos se hacen bien en caldo de gallina ó de buey, á los cuales los autores precedentes recomiendan añadir un poco de glicerina y una pequeña cantidad de sulfato ferroso.

Estos cultivos tienen, al principio, una virulencia igual á la de la serosidad del tumor ó de la sangre que contiene bacilos; su poder infeccioso se mantiene hasta la tercera generación, se atenúa durante las dos siguientes y acaba por extinguirse completamente.

La virulencia resiste un frío intenso; según los experimentos de Pictet y Yung, subsiste á pesar de sufrir fríos de —70° y —130° mantenidos durante veinte horas, seguidos de una lenta calefacción. Las temperaturas elevadas tienen una acción más funesta. La virulencia se conserva mucho tiempo á 65° en el aire seco; se extingue al cabo de dos horas veinte minutos á 70°, al cabo de dos horas á 80° y en veinte minutos á 100°; dos minutos de inmersión en el agua hirviente le hacen desaparecer.

Si se toma la precaución de secar lentamente á 35° la materia virulenta, guarda por más tiempo su actividad; el producto de la desecación guarda su virulencia uno ó dos años, y, si se le humedece previamente, soporta temperaturas más elevadas que las precedentes; no empieza á atenuarse á 85° sino después de seis horas. Llevando progresivamente la temperatura á 90°, 95°, 100°, y 105°, se obtienen virus cuya atenuación va creciendo; á 110° la vitalidad no desaparece sino al cabo de seis horas. En el mismo orden de ideas, la putrefacción nada produce; únicamente los antisépticos más enérgicos son activos.

La virulencia de un virus atenuado puede volver á su crudeza primitiva y aún aumentar, si se añade al virus un poco de una solución de ácido láctico al quinto. Según Nacard y Roux, el hecho se debe á una ligera alteración que el ácido láctico determina en los tejidos en que el producto se inyecta, alteración que favorece el efecto perjudicial del parásito; una simple contusión produciría los mismos resultados.

Los bueyes y los carneros se cuentan entre los animales más sensibles á la enfermedad; mueren por regla general al cabo de treinta á sesenta horas. No obstante, los bueyes de teta ó muy jóvenes tienen una inmunidad relativa. El conejo sucumbe rápidamente con lesiones características. La cabra resiste algunas veces. La cobaya perece de ordinario en tres días; pero á la larga, después de varios pasos sucesivos por el organismo, puede no producir en ella más que accidentes locales. El asno y el caballo sólo ofrecen una obstrucción dolorosa de los músculos y del tejido celular de la región en que se practicó la inoculación. El perro, el gato, el cerdo, la rata, la gallina, el pato y la paloma son, al parecer, refractarios. Las ranas inoculadas y mantenidas en estufa á 22°, mueren en quince ó treinta horas; el líquido de los sacos linfáticos encierra muchas bacterias y se muestra muy virulento.

Un ataque no mortal de esta enfermedad confiere una inmunidad cuya duración está en razón directa con la intensidad de esta primera enfermedad. Esta enfermedad disminuída puede provocarse por virus atenuados, ó por dosis mínimas de cultivos muy virulentos ó por cantidades mayores inoculadas en puntos de una débil receptividad, el extremo de la cola ó el pabellón de la oreja, por ejemplo. Se nota una gran tolerancia por las inyecciones de materias virulentas en el sistema venoso; ocasionan una especie de enfermedad latente que vuelve á los animales refractarios.

Los virus atenuados por la acción del calor son los más fáciles de preparar y los más seguros. La materia virulenta, cultivo ó mejor

serosidad del tumor, se deseca á una temperatura de 32° á 35°; se humedece y calienta, lenta y progresivamente, á partir de 80°; entre 100° y 104° se atenúa mucho y da un principio de inmunidad al carnero, al buey y á la cobaya; enseguida se usa un virus más fuerte, que sólo se ha calentado entre 85° y 90°, para reforzarla. La inoculación se hace triturando la substancia virulenta en un mortero con agua, de modo que se diluya perfectamente; la región elegida para la operación es la parte inferior de la cola ó de la oreja.

Roux pudo vacunar cobayas, inyectándoles en el peritoneo caldo privado de bacterias por una calefacción á 115° ó una filtración por porcelana. El líquido esterilizado se inyecta en una dosis de 40 centímetros cúbicos, por tres veces, en dos días de intervalo. Las cobayas así vacunadas contra el carbunclo sintomático resisten á menudo la inoculación del *vibrión sèptico*.

Hasta ahora esta enfermedad no se ha observado en el hombre, á menos que no forme parte del grupo mal deslindado de los *tumores carbunclosos*. Es, no obstante, prudente, en vista de la gravedad de los síntomas enunciados, rechazar absolutamente el uso de carne de bueyes que están atacados y recomendar que se tomen grandes precauciones para manejarla.

Bacillus mallei Löffler.—El muermo es una enfermedad contagiosa en alto grado que se ceba en los caballos, los asnos y los mulos; es incurable y con gran frecuencia mortal. Está caracterizado por lesiones viscerales importantes, nódulos especiales que se forman principalmente en el bazo y en los pulmones, abcesos metastáticos en diversos órganos, á menudo en los testículos. Sólo más tarde aparece la induración de los ganglios linfáticos, la *glándula*, y la inflamación ulcerosa, *cáncer*, de la mucosa pituitaria, provoca *moquillo* viscoso y aglutinante. La enfermedad tiene, al parecer, una marcha lenta, presentando los mismos síntomas; entonces se le conoce mejor con el nombre de *lamparones*.

El muermo se desarrolla en el hombre por contagio directo, procedente por lo general del caballo; por esta razón se observa principalmente en los individuos cuya profesión les aproxima á los animales precitados. Se presenta en el estado agudo ó subagudo de lamparones. Es una enfermedad casi siempre mortal.

Cierto número de estas especies animales son igualmente susceptibles de contraer el muermo, si bien que sin presentarlo naturalmente por decirlo así, sino experimentalmente. Estas son principalmente la cabra, el carnero, el conejo, la cobaya y diversas especies de ratones. El perro sólo presenta casi simples accidentes locales, un abceso en el punto de inoculación; la muerte podría ocasionarse en los perros jóvenes. Por eso Galtier recomienda la inoculación al perro en los casos dudosos, en que el diagnóstico exacto de un moquillo de caballo deba ser escrupulosamente establecido.

La presencia de bacterias, en el pus y el jugo de las glándulas vasculares sanguíneas, fué reconocida con certeza por Christot y Kiener, que describieron *micrococcus* y palitos móviles de 2 μ á 10 μ de largo. Pero el origen bacteriáceo de la enfermeddad sólo fué demostrado por los trabajos de Bouchard, Capitán y Charrín que en 1881, obtuvieron del pus del abceso de un hombre atacado de muermo, cultivos en caldo, que determinaron en las cobayas y en un asno la aparición de los síntomas del muermo. Al año siguiente, estos mismos experimentadores llegaron á resultados igualmente favorables, empleando pus y moquillo de un caballo muermoso. Al quinto y sexto día hicieron perecer dos asnos del muermo agudo típico.

Löffler y Schütz enunciaban poco después conclusiones idénticas y lograban aislar de un modo seguro la bacteria patógena, que Bouchard, Capitán y Charrín parece que no habían obtenido, hasta entonces, en cultivos puros. Los caracteres específicos se establecieron minuciosamente desde entonces en los trabajos de Kitt, Weichselbaum y sobre todo en una hermosa memoria más reciente de Löffler, en donde se encontrarán todos los detalles relativos al muermo experimental.

Los *bacilos del muermo* se encuentran en las secreciones patológicas de los animales atacados; pus y moquillo sobre todo; son muy abundantes en los nódulos que se observan

en la autopsia, sobre todo en los pulmones y en el bazo, y se parecen al principio á granulaciones tuberculosas. Consisten en palitos que miden de 2 μ á 5 μ de largo y de 0'5 μ á 1'4 μ de ancho, de la talla de los *bacilos tuberculosos,* pero un poco más espesos; son rectos ó están ligeramente encorvados y presentan una movilidad bien perfecta. Se colorean por los procedimientos habituales, pero de un modo poco intenso; el método preferible es la coloración del agua de anilina á la que se ha adicionado violeta de genciana, á la cual se añade una pequeña cantidad de solución de potasa ó de amoníaco.

Los cultivos se obtienen fácilmente; por lo común no se hacen á una temperatura inferior á 20°, excepto en la gelosa glicerinada de Nacard y Roux, que es un medio muy favorable para esta especie. El óptimum de temperatura está colocado cerca de 37°; el desarrollo se detiene á 43°; los cutivos mueren á 55°.

En la gelatina que se mantiene fundida á 37°, se forma una masa filamentosa, blanquecina y viscosa.

Sobre gelosa glicerinada á 37°, según Kranzfeld, el desarrollo es muy abundante. El segundo día se produce, á lo largo de la estría, una faja ancha de 2 á 3 milímetros, de un color blanco mate, que alcanza 7 ú 8 milímetros en seis ú ocho días. La vegetación sobre este medio se verifica también á la temperatura ordinaria, pero con más lentitud.

Sobre suero á 37° se obtienen gotitas transparentes, amarillentas.

Los cultivos sobre patata son muy característicos. Al segundo día se apercibe en la superficie de la sección una capa delgada, amarillenta, transparente; al día siguiente la capa se vuelve uniforme, de apariencia de ámbar. Al cabo de seis á ocho días, este cultivo parecido al ámbar, transparente, se vuelve opaco y toma un tinte rojizo. Una zona de substancia que rodea á la patata toma un débil tinte verdoso. Esta forma de cultivo es muy constante; se obtiene siempre, cualesquiera que sean la procedencia y la edad de la materia que sirve para la inoculación. Puede considerarse como característica; el solo cultivo del *bacilo del pus azul* tiene un aspecto semejante, pero se parece mucho menos al ámbar amarillo y los cultivos de algunos días tienen un reflejo nacarado; en fin, en los casos dudosos, tratándole con el agua amoniacal, se obtiene la coloración azul de la piocianina.

Estos cultivos, los hechos sobre patatas entre otros, son virulentos y su potencia nociva no parece atenuarse con la edad; cultivos de segunda generación determinan rápidamente en las cobayas y los ratones de campo, síntomas de muermo experimental.

En la cobaya, el muermo desarrollado á causa de la inoculación es fácil de reconocer; el hecho es importante, sobre todo á causa del apoyo que de él se puede sacar en el diagnóstico del muermo del caballo en los casos inciertos, de larga duración, que son los más temibles á causa de la facilidad con que se contagían al hombre. La cobaya inoculada muere comúnmente á los diez ó doce días presentando abcesos en los testículos y numerosos nódulos especiales en el bazo, y á veces algunos muy pequeños en el hígado; se encuentran en el pus de los abcesos y en el contenido de estos nódulos, bacilos fáciles de reconocer por su forma y el aspecto de los cultivos. La mucosa nasal se cubre en parte ó totalmente de una masa mucosa blanquecina, que encierra numerosos bacilos. En el punto de inoculación, se observa un edema poco extenso.

Se tienen todavía muy pocos datos respecto la inmunidad conferida por ataques débiles de la enfermedad, ó por procedimientos artificiales. Galtier notó, sin embargo, que el perro, que sólo presente accidentes localizados en el punto de inoculación, puede contraer hasta cinco veces esta enfermedad, aunque ofreciendo síntomas cada vez más marcados.

El contagio procede de la penetración en el organismo de productos muermosos. El aire espirado por animales enfermos no es virulento, según los experimentos de Cadeac y Malet; lo mismo sucede con las emanaciones cadavéricas de los que sucumbieron. La inoculación subcutánea ó el contacto de la materia virulenta con una herida son los modos más seguros de contagio. Las inyecciones de virus en la tráquea no ocasionan, de un modo fatal, la enfermedad; hay en tal caso una gran

tolerancia, subordinada á las alteraciones de la mucosa respiratoria. Cadeac y Malet demostraron dos veces en trece casos la transmisibilidad del muermo de la madre al feto, á través de la placenta.

Desecado y expuesto al aire el virus pierde rápidamente su potencia. Moquillo muermoso que se mantuvo en el agua conservó su virulencia durante dieciocho días. La virulencia se destruye por una ebullición de dos minutos en el agua ó por la permanecencia de cinco minutos en agua á 80°.

Las precauciones más minuciosas son necesarias para impedir que la enfermedad se extienda, cuando se ha declarado en una cuadra, ó que se comunique á las personas que se acercan á los animales enfermos. Los locales y los objetos que pudieran estar manchados por la sangre ó el moquillo deben desinfectarse con cuidado, con agua hirviente ó con una solución de sublimado, que al 1 por diez mil destruye fácilmente la virulencia muermosa.

Hasta ahora la carne de los animales muermosos no ha sido, al menos así lo parece, la causa de accidentes; verdad es que el único animal, llevado á veces al matadero, que puede contraer el muermo es el caballo. Sin embargo, en vista de la posibilidad de contagio que presenta principalmente el manejo de carne cruda ó la absorción de carne poco cocida, es preciso alejar á cualquier precio estas carnes del consumo. Presentan pocos caracteres distintivos; éstos consisten en las lesiones de las vísceras y de la mucosa nasal.

Bacillus diphtheriæ Löffler.—El estudio microscópico de las falsas membranas diftéricas, hizo reconocer la presencia de bacterias de especies diversas, que no tienen evidentemente la misma importancia. Al lado de la especie verdaderamente patógena, causa de esta enfermedad tan contagiosa, se encuentran otras, probablemente accidentales ó pertenecientes á estas bacterias comensales, abundantes en la superficie de ciertas mucosas, que pueden desempeñar un papel secundario, contribuir quizás á la formación de las falsas membranas y ayudar así á la vegetación del parásito. Este es el caso de la especie de que ya hemos hablado con el nombre de *micrococcus diphthericus,* observada por muchos autores, que Löffler pudo aislar de las falsas membranas diftéricas, que sólo encontró en un caso de difteria de la laringe, pero á la cual no pudo reconocer, de un modo positivo, una acción patógena cualquiera.

Klebs había señalado la presencia de palitos en las falsas membranas. Löffler logró aislar y cultivar un bacilo que encontró con frecuencia en las falsas membranas de la faringe, de la laringe, de la tráquea y en el jugo pulmonar en un caso de bronquio-neumonia diftérica. Darier llegó á resultados análogos.

La constituyen palitos rectos ó encorvados, siempre inmóviles, casi tan largos como el *bacilo de la tuberculosis* y de un espesor doble, midiendo de 2'5 μ á 3 μ de largo por 0'7 μ de ancho. Los extremos son redondeados; á veces se hinchan ligeramente tomando una apariencia de maza. Se colorean bastante mal en soluciones acuosas; se obtienen muy buenas preparaciones por medio de la solución alcalina de azul de metileno. Según Babés pueden formar esporos ovoideos, brillantes, mayores que los artículos en que se producen; estos esporos se colorean muy bien por el método de doble coloración ya indicado, y resisten una temperatura de 100°.

Esta bacteria sólo se desarrolla á una temperatura superior á 20° y cesa de crecer á 42°.

Löffler obtuvo fácilmente cultivos sobre un suero solidificado, que prepara mezclando tres partes de suero de sangre de buey ó de carnero y una parte de caldo de buey peptonizado y azucarado, y coagulándolo á 70°. Inoculando con restos de las falsas membranas y manteniendo los cultivos á 37°, se desarrollan en algunos días colonias de bacilos y de micrococos. Estas colonias son fáciles de distinguir; las de micrococos permanecen pequeñas, transparentes; las de los bacilos son más anchas y opacas. Transportadas á un nuevo cultivo, estos últimos dan en dos ó tres días á 37°, una capa espesa blanquecina, opaca y con superficie brillante.

En cultivos sobre placas obtenidas por medio de jalea que encierre 15 por 100 de gelatina y que permanezca sólida hasta 24°, dan pequeñas colonias blanquecinas que aumen-

tan poco á poco y no licuan la gelatina.

En picadura y en la gelatina, el desarrollo se hace mal; se producen numerosas formas anormales. El cultivo permanece mínimo; consiste en pequeñas colonias esféricas pegadas entre sí en el canal de la picadura. Manteniendo varias semanas á 18°—22°, temperatura inferior á la de crecimiento, cultivos sobre gelatina de éstos, Babés observó la formación de esporos.

Los cultivos sobre patata no dan ningún resultado.

La inoculación prospera en un buen número de animales. Las cobayas son las más sensibles; después de una inyección subcutánea mueren al cabo de pocos días, ofreciendo un edema sanguinolento en el punto en que se practicó la operación. Los conejos sucumben también, pero no es seguro. La inoculación en la tráquea, precedida de una irritación ó de una lesión de la mucosa, determina en ella la formación de falsas membranas en los conejos, los pollos y las palomas. Los ratones y ratas son refractarios.

En la autopsia, lo más frecuente es que no se encuentren bacterias en los tejidos ni en las lesiones del animal. Löffler había ya observado esta particularidad en los individuos muertos del crup. Esto es lo que le condujo á admitir que la acción nociva podía muy bien ser debida á una substancia tóxica segregada por el bacilo, cuya acción podría manifestarse aún después de la desaparición de aquél.

La difteria se observa con mucha frecuencia en las aves, en particular en las de corral. En los pollos principia comúnmente por la mucosa de la lengua, en la base y lados de la cual se reproduce rápidamente cuando se le quita; tal es la enfermedad conocida con el nombre de *pepita*. En las falsas membranas traqueales ó intestinales se encuentran palitos del mismo aspecto que los precedentes.

Löffler encontró en la difteria de las palomas bacilos más cortos que no licuan la gelatina y dan sobre patata un tenue cultivo grisáceo que casi se confunde con la superficie de la tráquea. Las palomas y los conejos son receptivos; los pollos, las cobayas y los perros son refractarios.

Este mismo autor señaló en las falsas membranas diftéricas del buey, palitos que considera como el agente especial de la difteria del buey, frecuente, según parece, en Alemania.

Ribbert describió, en una difteria del intestino del conejo, un bacilo que mide de 3 μ á 4 μ de largo por 1 μ ó 1'4 μ de ancho, que se cultiva fácilmente en los medios habituales, cuya inoculación subcutánea determina una especie de septicemia en el conejo. Llevando cultivos á la cavidad bucal, pudo provocar la formación de falsas membranas sobre las amígdalas.

Se observa con bastante frecuencia en los perros de caza una enfermedad, muy á menudo mortal, que los veterinarios consideran como una estomatitis ó angina gangrenosa y que mejor debiera referirse á las enfermedades diftéricas. El animal se vuelve triste, calenturiento; la mucosa de la boca y de las fauces es roja, muy inflamada; la deglución es difícil. De la boca se vierte una baba viscosa, transparente, no espumosa. Las encías, la mucosa de la boca y de la faringe se cubren de placas cianosadas; la deglución se hace imposible, y sin embargo, el perro trata de beber, sumerge su cabeza en el agua, la cual no puede tragar generalmente, y se desliza por las comisuras de los labios. Nunca hay espasmo de la faringe. El estado general se pone rápidamente grave; la muerte llega cinco ó seis días después de haber empezado la enfermedad. En un caso de este género, es casi imposible contener la marcha de la enfermedad con los medios más enérgicos.

Según estos datos, puede uno convencerse de la multiplicidad de especies de bacterias que ocasionan procesos diftéricos. Todavía no es posible fijar las relaciones que guardan entre sí. Para muchos, la difteria de los animales, en particular la de los volátiles, es contagiosa para el hombre, y aun sería esta la fuente principal de la enfermedad humana. Se han citado observaciones muy serias en apoyo de esta opinión.

Bacilo del tétanos.—La opinión de la contagiosidad del tétanos es antigua; se apoya principalmente en la observación de verdaderas epidemias de esta enfermedad. Reciente-

mente volvió á tratarla y sostenerla brillantemente Verneuil, quien no vacila en afirmar que el tétanos jamás es espontáneo, sino que procede siempre de la penetración de materia infecciosa por una solución de continuidad traumática, exterior ó interior.

Una primera prueba experimental suministraron los estudios de Nicolaier, quien demostró que la inoculación subcutánea de tierra cogida en los campos, los jardines, las calles, determinaban en los ratones, los conejos ó los conejos de India, ora la septicemia del *vibrión séptico,* ora un verdadero tétanos. Al cabo de uno ó dos días después de la inoculación, se producen contracciones de los miembros, opistotonos á menudo muy pronunciados, trismos en las mandíbulas. La disnea sobreviene luego, poco después la muerte, al tercer día en los ratones, del quinto al séptimo en las cobayas y los conejos. En la autopsia no se encuentra nada especial, exceptuando una mínima colección purulenta en el punto de inoculación.

En este pus, Nicolaier encontró bacterias que medían, por término medio, 1 μ de largo por 0'4 μ de ancho, que se coloreaban muy bien con los colores de anilina, y de las cuales muchas terminan en un esporo oval, brillante, mayor que el palito en que se formó. No le fué posible á este observador obtener cultivos puros, puesto que siempre había, mezcladas con la primera especie, otras bacterias de putrefacción. El desarrollo no se verifica sobre gelatina, ni sobre gelosa. En estría sobre suero solidificado, nada se forma en la superficie, sino que sólo se forman pequeños copos blanquecinos en el exceso del liquido reunido en el declive del tubo. Esos cultivos son virulentos y determinan en los ratones y los conejos un tétanos rápidamente mortal.

Rosenbach encontró este mismo bacilo en la llaga de un individuo muerto de tétanos y pudo determinar esta enfermedad en ratones y conejos inoculándoles bajo la piel fragmentos de tejido cogidos en el punto enfermo. Fué el primero que señaló estos bacilos en la médula espinal. Se obtuvieron igualmente cultivos, pero contenían, como los de Nicolaier, varias especies. Su inoculación causó siempre un tétanos mortal en los animales.

Hochsinger anuncia resultados en un todo semejantes á los precedentes.

Bonome observó en cinco casos de tétanos traumático, tres en el hombre, uno en el caballo y otro en el carnero, la presencia constante del bacilos descrito como patógeno por Nicolaier, fácil de distinguir por su modo de formar sus esporos. Le atribuye una longitud doble ó triple de la del *bacilo de la tuberculosis;* probablemente son palitos en cadenas los que él apercibió. Este bacilo no se ha podido obtener en cultivos puros; siempre le acompañan otras especies de putrefacción. Los cultivos transmiten fácilmente la enfermedad. Bonome determinó igualmente el desarrollo del tétanos y la aparición de esta misma bacteria inoculando á algunos animales cascote de una iglesia en que habían sido enterrados individuos muertos del tétanos.

Brieger pudo aislar de los cultivos de Rosembach tres tomainas diferentes por sus propiedades químicas y su acción fisiológica. La *tetanina* cristaliza en agujas, y determina, por medio de una inyección subcutánea excesivamente débil, los síntomas clásicos del tétanos. La *tétanotoxina* produce convulsiones tónicas y clónicas. La *espasmotoxina* ocasiona una insalivación muy enérgica y convulsiones. Se deben sin duda referir todos ó parte de los fenómenos observados en el curso de la enfermedad, á la producción, en el organismo atacado, de estas subtancias tóxicas, debidas á la secreción de las bacterias que en él se introdujeron.

El mismo bacilo obtuvo Beumer en un caso de tétanos de recién nacido; este autor no fué más dichoso que los precedentes para los cultivos. Su observación permite, no obstante, reunir el tétanos ó trismos de recién nacidos al tétanos traumático. Para él el contagio se haría en este caso por la llaga umbilical.

Delante de estos resultados concordantes, se tiene el derecho de reconocer al tétanos un origen bacteriáceo y de atribuir una acción patógena incontestable al bacilo señalado por Nicolaier. La gran repartición de esta especie por el suelo puede explicar de un modo natural los casos de tétanos tan graves,

que complican llagas en apariencia insignificantes que se han manchado con tierra ó han tocado objetos sucios.

Verneuil precisa también las condiciones del transporte del contagio. Apoyándose en un sin número de observaciones, demuestra que la mayor parte de casos de tétanos del hombre proceden del caballo.

1.° Cuando el hombre se hiere con un instrumento que sirvió á un caballo;

2.° Cuando es mordido ó herido por este animal;

3.° Cuando estando herido permanece en contacto más ó menos contínuo con él;

4.° Cuando se hiere en una caída de caballo ó de coche;

5.° Cuando estando herido de cualquier modo, su llaga se mancha con excremento de caballo ó con tierra impregnada por ellos;

6.° Cuando en fin tiene una profesión que le pone sin cesar en relación con los caballos ó con sus deyecciones ó con la tierra que las recibe.

Bacilo del sarampión del cerdo Löffler.—El *sarampión del cerdo, mal rojo, viruela roja, erisipela carbunclosa, tifus carbuncloso, Rothlauf* en alemán, es una enfermedad infecciosa que se ceba epizoóticamente en los cerdos y ocasiona pérdidas considerables á los que los crían, cuando se declara en los establos muy poblados. La enfermedad se caracteriza por la aparición sobre la piel de manchas rojas irregulares, sobre todo en las orejas, en el pecho, en el vientre, en la faz interna de las nalgas y por por una viva irritación intestinal. Las complicaciones en las grandes serosas son frecuentes. La muerte sobreviene sesenta veces en cien casos, ora algunas horas después de la aparición de los primeros síntomas, ó con más frecuencia después de algunos días, de dos á cinco.

En la autopsia, las lesiones principales son las del intestino. La mucosa está roja, entumecida, ulcerada en muchos puntos; las placas de Peyer se hinchan mucho y á veces se ulceran. El peritoneo, la pleura y el pericardio, se inflaman y revisten de una exudación fibrinosa. El bazo es normal; los pulmones son permeables. La sangre y el jugo de los órganos encierran muchas bacterias.

Pasteur y Thuillier señalaron en la sangre y las exudaciones patológicas de esta enfermedad del cerdo bacterias redondeadas en forma de 8 que ellos pudieron cultivar, y cuya virulencia llegaron á atenuar á fin de obtener una vacuna. La longitud aumentaba en los cultivos. Casi no se puede negar, en vista de estos caracteres, que estos observadores vieron el verdadero organismo patógeno. Cornevín describió en el mal rojo palitos cortos que quizás no son otros que las formas en 8 de Pasteur y Thuillier. Löffler fué quien fijó de un modo seguro los caracteres del *bacilo del sarampión del cerdo* y quien logró aislarlo y cultivarlo en medios sólidos.

Estas bacterias se observan sobre todo en la sangre, y son muy abundantes en los vasos de la piel. Consisten en finos palitos de 0'6 μ á 1'8 μ de largo por 0'3 μ próximamente de ancho, aislados ó reunidos en pares ó en pequeñas masas entre los glóbulos de la sangre. La forma se parece mucho á la del *bacillus murisepticus;* las dimensiones son idénticas, excepto la longitud que es algo mayor. Los cultivos tienen también el mismo aspecto que los de la última especie.

Sobre placas de gelatina da al cabo de dos ó tres días pequeñas colonias filamentosas, que se asemejan á tenue plumón incluído en la jalea. Estas colonias están constituídas de delgados filamentos ramificados y anastomosados entre sí. La gelatina no es licuada.

En picadura en un tubo de gelatina (figura 135), el cultivo toma un aspecto muy característico, en un todo semejante al del *bacillus murisepticus*. Del canal blanquecino parten numerosos filamentos sinuosos ramificados, que irradían en la gelatina ambiente, rodeando el surco central de una masa nebulosa semitransparente.

Sobre gelosa, se forman, á lo largo de la estría de inoculación, pequeñas colonias blanquecinas.

El caldo, sembrado con sangre ó con el producto de cultivos puros, se enturbia rápidamente, luego deja depositar un débil sedimento blanquecino, muy ligero, sin presentar nunca velo.

Según Schottelius, las bacterias que crecen en el caldo son ligeramente móviles, y los

cultivos mantenidos á 40° encierran pequeños esporos redondos, brillantes.

Los cultivos conservan su virulencia aún después de una larga serie de generaciones. Matan rápidamente los ratones y palomas. Los conejos pueden morir en cinco ó seis dias ó no presentar más que accidentes locales. Las cobayas y gallinas son refractarias. La inoculación permite ocasionar un mal rojo mortal en cerdos jóvenes; los fracasos de Löffler parecen debidos á que experimentó, en una raza muy montaraz, más resistente que las especies criadas comúnmente para el consumo.

Pasteur y Thuillier lograron establecer un método seguro para la vacuna contra el mal rojo basándose en ciertas particularidades del desarrollo de la bacteria en el organismo animal. Cuando se hace pasar virus por el organismo de una paloma, su virulencia aumenta de tal suerte, que después de dos ó tres pasos, presenta una potencia de infección mucho más marcada que la del virus natural más fuerte, tomado en un cerdo que acaba de sucumbir de la enfermedad. Sirviéndose de un conejo como organismo de transición para inocular enseguida al cerdo, se observa todo lo contrario. La virulencia disminuye sensiblemente, de tal suerte, que después de varios pasos, sangre tomada en este último conejo, no determina en el cerdo más que una ligera enfermedad que se cura fácilmente y confiere una inmunidad relativa. Esta virulencia no disminuye sin embargo respecto al conejo, sino que por el contrario aumenta, y los conejos inoculados en series perecen cada vez más aprisa.

Cultivando sangre de conejo, Pasteur prepara dos vacunas de diversa fuerza que, inoculadas sucesivamente á los cerdos jóvenes, les da una inmunidad durante un año, suficiente en este caso especial, puesto que el tiempo acordado es más que suficiente para engordarlos.

Schütz y Kitt repitieron los experimentos de Pasteur y llegaron á conclusiones poco diferentes.

La enfermedad se comunica por los alimentos; los excrementos son la causa principal del contagio. Los bacilos deben encontrarse en ellos en gran cantidad, á causa de las ulceraciones numerosas del intestino.

El uso de la carne de cerdos que se mataron al principio de la enfermedad no es perjudicial al parecer, puesto que la enfermedad no se comunica al hombre.

Según Pasteur, los carneros pueden contraer el mal rojo. Cornevín cita como refractarios el mulo, el asno, el perro, la gallina, el oca y el pato. Lydtin cree que el buey es algunas veces infectado.

Bacilo de la neumoenteritis del cerdo. —Los cerdos están sujetos á una enfermedad infecciosa, por mucho tiempo confundida con la anterior de la cual ofrece algunos síntomas, y que se sabe ahora que es muy distinta y la ocasiona una bacteria especial. La enfermedad es conocida en Alemania con el nombre de *Schweineseuche,* en Inglaterra y en América con los nombres de *cholera-hog,* ó *swine-fever, swine-plague.* En España y Francia se ha descrito, en estos últimos tiempos, con los nombres de *neumoenteritis, neumonía contagiosa* ó *neumonía infecciosa.* Los individuos atacados sucumben la mayor parte de las veces de una neumonía fibrinosa; otras veces el intestino es el principalmente atacado, y la muerte sobreviene á causa de complicaciones intestinales que recuerdan las de la fiebre tifoidea del hombre.

Esta enfermedad fué estudiada por Schütz en Alemania, Klein en Inglaterra y Salmon en América. Cornil y Chantemesse la hicieron recientemente objeto de estudios más completos.

La enfermedad, casi siempre mortal, dura de diez á treinta días; en los casos muy graves, puede terminar mucho antes y llevarse al animal en pocas horas. Empieza por una gran fatiga, una disminución de apetito y un enflaquecimiento rápido. Luego se declara la fiebre, y aparece la tos; los animales son á menudo atacados de una diarrea mucosa, fétida, que puede ser reemplazada por la constipación, cuanto la enfermedad se ceba desde el principio en el pulmón. La piel puede presentar placas rojas sobre todo en las orejas y las patas; esto es lo que la hacía considerar como variedad del mal rojo. La forma pulmonar es generalmente mortal; la forma in-

testinal deja más esperanzas, según los experimentos de Rietsch, Jobert y Martinaud la administración de subnitrato de bismuto da buenos resultados.

En la autopsia, el bazo, el hígado y los riñones están comúnmente sanos; las lesiones afectan principalmente los pulmones y el intestino. Los pulmones son el asiento de una neumonía fibrinosa; el intestino está muy inyectado y las placas de Peyer muy entumecidas y existen á menudo numerosas ulceraciones.

La sangre y sobre todo la exudación del pulmón contienen numerosas bacterias encorvadas, con extremos redondeados, que miden de 1 μ á 2 μ de largo por 0'3 μ de ancho. Cornil y Chantemesse y los autores alemanes le consideran inmóviles; para Rietsch tienen movimientos poco pronunciados.

Los cultivos se obtienen fácilmente con el jugo de los órganos enfermos. Este bacilo es aerobio, pero puede desarrollarse sin presencia del oxígeno.

En picadura sobre gelatina, se forman en el canal pequeñas colonias blanquecinas, y en la superficie una delgada capa brillante; la gelatina no es licuada. En estría, se desarrolla en la superficie una mancha transparente, más ó menos espesa; cuando las colonias son escasas, se obtienen círculos concéntricos unidos entre sí por finos tractos cortados en forma de sierra.

Sobre gelosa, el cultivo produce una capa lechosa bordeada de una especie de sierra.

Sobre patata la vegetación es más abundante; da una capa grisácea bastante espesa.

Los cultivos se hacen muy bien en caldo sin presentar ningún carácter particular.

Los cultivos son virulentos. La inyección en el pulmón determina en el cerdo una enfermedad que recuerda la primitiva, causando la muerte como ella, con síntomas pulmonares ó intestinales. Los mismos cultivos matan en pocos días los conejos, las cobayas y los ratones; las palomas son refractarias. La contaminación puede hacerse mezclando con los alimentos producto de cultivo; la incubación parece que entonces dura más.

Los animales que no sucumben á un primer ataque de la enfermedad ofrecen una verdadera inmunidad; por esto se trató enseguida de recurrir á la vacuna. El procedimiento de vacunación pastoril contra el mal rojo, aplicado al principio, cuando se creía en la identidad de enfermedades, no dió buenos resultados, lo cual se concibe en vista de la diversidad de enfermedades; Cornil y Chantemesse anuncian haber obtenido virus atenuados que pueden conferir la inmunidad necesaria, pero sin dar ningún detalle respecto este asunto.

Según Rietsch, esta misma especie causa en la gallina una enfermedad epidémica muy grave, cuyos síntomas son una congestión ó una hepatización de los pulmones y una fuerte inflamación de la mucosa intestinal.

Bacillus salivarius scpticus Biondi.—Es muy frecuente, según Biondi, en la saliva de los individuos sanos ó enfermos.

Los ratones ó los conejos, á los cuales se inocula $^1/_2$ centímetro cúbico de saliva, mueren comúnmente en veinticuatro, cuarentiocho ó setentidós horas. Los animales se vuelven rápidamente apáticos, permanecen de veinticuatro á treintiséis horas sin comer y caen en un profundo sueño. Sucumben con los síntomas de una septicemia aguda. En algunos casos la enfermedad es solamente subaguda; esto sucede cuando los animales son muy fuertes, ó que sólo se ha inyectado una pequeña dosis de materia virulenta. Se obtienen efectos idénticos, inoculándoles con algunas gotas de sangre, de la saliva ó de la exudación de los órganos de animales muertos á causa de una inyección de saliva. Las cobayas parecen refractarias.

En la autopsia, se encuentra en el lugar de la inoculación una infiltración edematosa de tejido celular subcutáneo y de las masas musculares cercanas. Si la inoculación se hace en el vientre ó en el dorso, el animal puede perecer hinchado. El bazo es de un color pardo rojo y tiene dos ó tres veces su volumen normal; el interior tiene un tinte rojizo obscuro; no se obtiene sangre á la presión; bajo la cápsula se encuentran muchas pequeñas hemorragias. La sangre y la saliva contienen gran número de bacterias.

Éstas son cortos palitos de forma elíptica, con extremos puntiagudos, que miden de 1 μ á

1'5 μ de longitud y 0'6 μ de anchura por término medio; son muy poco refringentes, inmóviles y rodeados de una aureola clara. En la sangre y líquidos están en pares, con una cápsula común, ó cada uno con su cápsula separada. En los tejidos, se les encuentra reunidos en pares, en pequeñas cadenas ó en masas. En el caldo, se forman larguísimas cadenas de elementos redondos desprovistos de aureola. No tienen esporos, y se colorean bien por los procedimientos habituales y permanecen coloreados por el método de Gram.

Los cultivos se hacen fácilmente; el óptimum de temperatura es de 35° á 37°, la especie crece bien á 22° y muy mal á una temperatura inferior. A menos de 10°, no se verifica ningún desarrollo. Parece desarrollarse muy bien en los medios ligeramente ácidos, peor en los neutros y casi nada en los que tienen una reacción alcalina.

En cultivo sobre placas, las colonias aparecen en cuatro ó cinco días á 22°, extendiéndose poco y cesando por completo de crecer después de seis ó siete días. Consisten en pequeños discos de bordes distintos, con centro opaco, rodeado de una zona transparente. No licuan la gelatina.

En picadura sobre gelatina, se forma en el canal una faja clara, delgada, que presenta en la periferia gran número de pequeñas colonias puntiformes. En estría el desarrollo es idéntico y se verifica con preferencia en la parte profunda de la estría, lo cual prueba que la presencia de oxígeno en abundancia no es necesaria.

Sobre gelosa, aparecen en la superficie pequeñas gotitas circulares completamente transparentes. Los cultivos son más abundantes sobre suero que sobre los demás medios; las colonias que en él se desarrollan son semejantes á las obtenidas sobre gelatina.

Esta especie crece en el caldo sin enturbiarle; todo lo más que se observa es un débil velo blanquecino en los cultivos viejos. Se ve que en él forman largas cadenas de *coccus* desprovistos de aureola.

Los cultivos son virulentos. La virulencia está en su máximo en los cultivos de dos á ocho días, á 35°-37°, y de cuatro á quince días á 20°-22°. Son muy sensibles á la desecación. Los cultivos se debilitan si se les calienta más allá de 40° y se portan entonces como vacuna. Los caldos de cultivo se atenúan por sí mismos al cabo de veinte días y pueden servir entonces de vacuna.

Esta especie, es fácil convencerse de ello, es muy semejante al *micrococcus Pasteuri* y quizás idéntica á él.

Bacillus crassus sputigenus Kreibohm.—Kreibohm lo encontró dos veces en la saliva y la secreción lingual. Le constituyen cortos palitos con extremos redondeados que parecen á menudo unidos después de la división, y forman así filamentos moniliformes, más ó menos largos, flexibles. Se colorean bien y permanecen coloreados por el método de Gram. Están rodeados de una cápsula que se colorea en ciertas preparaciones.

En cultivo sobre placas, se forman en la gelatina pequeñas colonias ovales, amarillentas, granulosas; las de la superficie son de un color blanco grisáceo, con bordes redondeados, y convexas. En picadura, se obtienen en veinticuatro horas, un clavo típico. La gelatina no es licuada.

Sobre patata, se desarrolla una capa grisácea, espesa, algo viscosa.

Esta especie mata los ratones y los conejos en cuarentiocho horas; se encuentran muchas bacterias en la sangre de los animales muertos, principalmente en la sangre del hígado. Inyectando fuertes dosis en las venas de perros y conejos se les mata en tres ó diez horas, después de haberles causado deposiciones diarraicas sanguinolentas. En la autopsia se encuentran signos de gastroenteritis muy aguda.

Bacillus pseudopneumonicus Passet.—Fué aislado dos veces por Passet, del pus de los abcesos cerrados. Consisten en cortos palitos cuya longitud puede suceder que casi no sea superior á la anchura; entonces tienen apariencia de *coccus* y recuerdan los elementos del *micrococcus pneumoniæ*. La anchura es de 0'87 μ y la longitud máxima es, según parece, de 1'16 μ. Son inmóviles y, en las preparaciones de líquidos ó en los cultivos hechos á 37°, tienen una cápsula que se encuentra débilmente coloreada en algunas preparaciones.

Sobre placas, esta especie forma pequeñas colonias grisáceas, convexas que no encierran cocos. En picadura, no se produce ningún cultivo en el canal, sino únicamente en la superficie, al cabo de veinticuatro horas, una colonia grisácea, brillante, muy prominente. Al cabo de tres ó cuatro semanas la gelatina toma un tinte pardusco en sus capas superiores y despide un débil hedor de pufrefacción. La gelatina no se licua.

El cultivo sobre patata es espeso, brillante, blanquecino, nunca se forman en él burbujas de gas. Sobre suero se reduce á una ligera secreción pardusca.

Passet inoculó cultivos de éstos en ratones, ratas, cobayas y conejos. La inyección en las serosas da una viva inflamación, acompañada de supuración; la inyección subcutánea sólo tiene efectos poco marcados y las inhalaciones no determinan ningún desorden apreciable.

Bacillus pneumonicus agilis Schou.—Le constituyen palitos cortos y gruesos, móviles, que se asemejan á menudo á cocos ovoideos, que Schou encontró en la exudación del pulmón en los conejos, en tres casos de neumonía consecutiva á la sección del neumogástrico. Se colorean fácilmente por los colores de anilina y se decoloran por el método de Gram.

En cultivos sobre placas, forman pequeñas colonias redondas, granulosas, de color obscuro. Después de venticuatro horas han crecido y se muestran rodeadas de una corona de pequeños filamentos radiantes; la licuación de la gelatina se produce muy aprisa.

En picadura en un tubo de gelatina, la jalea se licua en poco tiempo; se deposita un sedimento espeso blanquecino. El desarrollo sobre suero es muy lento; el medio se licua un poco.

Los cultivos sobre patata se extienden muy aprisa y cubren toda la superficie del corte de una capa rojiza, de color agamuzado.

Las inyecciones de cultivos en la traquea, la pleura y los pulmones de conejos, ocasionan la muerte en poco tiempo, con síntomas neumónicos análogos á los observados en la enfermedad primitiva.

Bacillus coli commune Escherich.—Escherich lo encontró en las deposiciones de niños de teta ó de niños alimentados con leche; luego fué señalado como una de las especies constantes en el intestino del hombre y de los animales. Según Hüppe, es muy abundante en las deposiciones de los individuos atacados de colerina.

Sus elementos son cortos palitos, animados de un movimiento lento, de longitud variable, pues miden de 2 μ á 3 μ, y á veces más, de longitud y de 0'4 μ á 0'6 μ de anchura, reunidos por pares y asociados en pequeños enjambres. Se colorean bien por las soluciones habituales y se decoloran por el método de Gram.

En cultivo sobre placas, las colonias profundas se muestran, con un mediano aumento, como pequeños discos granulosos amarillentos. Las de la superficie aumentan más, se ostentan y dan islotes de bordes ondulados, cuya parte central que sobresale, es obscura y algo amarillenta por transparencia, y cuya parte periférica que es más delgada, hialina, con reflejos irisados, presenta ondulaciones en la superficie. La gelatina jamás se licua.

Sobre gelatina en picadura, se desarrolla en el canal un cultivo blanco, formado por pequeñas colonias pegadas, y en la superficie una delgada capa blanquecina, lechosa ó casi transparente, con bordes irregulares. En estría, se forma una delgada faja lechosa, algo azulada.

Sobre gelosa y suero, el cultivo es blanco, más opaco.

Sobre patata, esta bacteria se desarrolla con abundancia y da un ancho cultivo amarillo verdoso. Sembrando un tubo de gelatina con una partícula de colonia de patata, se puede obtener una colonia amarilla, que conserva su color desarrollándose, de muy distinta apariencia por lo tanto de la observada al principio en el mismo medio. La leche se coagula lentamente; en ella se forma una débil cantidad de ácido láctico y el coágulo permanece firme.

Ninguno de los cultivos produce esporos; muchos palitos, en los cultivos adelantados principalmente, presentan un espacio central claro, que separa los dos polos que se colorean con más intensidad y que no deben confundirse con esporos.

Esta especie, si bien es aerobia, no es muy exigente, al parecer, para el oxígeno, pues hasta puede crecer sin aire en los medios que encierran glucosa.

Los cultivos inoculados en conejos y cobayas, por inyecciones subcutáneas ó intravenosas, ocasionan la muerte de estos animales en un período de tiempo que varía entre uno y tres días. Los síntomas que siguen á la infección consisten en fuertes diarreas y una especie de estado comatoso. En la autopsia se encuentra el intestino muy hiperemiado, presentando numerosas manchas rojas, las placas de Peyer entumecidas y con frecuencia dilatación en el peritoneo. La sangre contiene gran número de bacilos. Los ratones se muestran refractarios.

Esta bacteria se encuentra muy á menudo en las aguas, quizás procedente de la contaminación por las materias fecales. En vista de los accidentes que ocasiona en los animales, su presencia debe hacer sospechosa el agua que la contiene. Vignal asimila al *bacillus coli commune* una bacteria que encontró en la boca en estado normal y á la cual designa con el nombre de *bacilo d*.

Bacillus lactis ærogenes Escherich.—Escherich, lo encontró con el precedente y en las mismas condiciones, en el intestino del hombre y de los animales alimentados con leche y sobre todo en los de teta; también cree que lo aisló una vez de la leche de vaca. Acompaña á la especie precedente en las evacuaciones riciformes de la colerina.

Consiste en palitos cortos y gruesos, de extremos redondeados, de una longitud de 1 μ á 2 μ y una anchura de 0'5 μ á 1 μ. Están unidos en pares ó forman pequeñas masas y no presentan ningún movimiento.

En cultivo sobre placas, las colonias que se desarrollan en el espesor de la gelatina son esféricas, amarillentas; las de la superficie forman pequeños discos opacos de un blanco de porcelana, á menudo con el centro deprimido. No licuan la gelatina. La picadura en un tubo de gelatina da un cultivo en clavo, blanco.

Sobre gelosa y sobre suero, se desarrolla una capa blanca, bastante prominente.

El cultivo sobre patata se forma de colonias blancas que pueden permanecer aisladas ó confluir en una capa caseosa, en la cual se producen á menudo burbujas de gas.

La leche se coagula rápidamente; en ella se produce una gran proporción de ácido láctico, y la caseína no se modifica. En el intestino, estas bacterias deben invertir el azúcar de leche y provocar su absorción. Descomponen enérgicamente el azúcar y producen el ácido láctico á sus expensas. No alteran la albúmina.

Las inoculaciones experimentales dan resultados análogos á los del *bacillus coli commune;* la acción patógena es sin embargo menos marcada.

Bacilo de la disenteria epidèmica Chantemesse y Widal.—Chantemesse y Widal obtuvieron, en cinco casos de disentería contraída en los países cálidos, un bacilo particular que consideran como el agente específico de esta enfermedad. Este bacilo se encuentra en las materias fecales durante la vida, en las paredes del intestino, en los ganglios mesentéricos, en el bazo. Los elementos son cortos palitos, poco móviles, con extremos redondeados; muy finos en el organismo, se vuelven algo más gruesos en los cultivos. Se colorean mal con los colores de anilina. Hasta ahora no se han observado esporos.

En cultivos sobre placas, las colonias tienen un aspecto muy característico. Al principio cuando todavía son puntiformes á simple vista, son pequeñas manchas claras. Más tarde toman un tinte amarillento y parecen constituídos por la reunión de dos círculos concéntricos de distinto matiz; el interior es más obscuro y su contorno algo accidentado, el exterior más claro, con bordes distintos. Luego pierden su coloración amarilla para volverse granulosas, blanquecinas. El diámetro no es mayor que el de una lenteja. La gelatina no se licua.

El cultivo se hace bien en todos los medios; la especie es al parecer poco exigente bajo el punto de vista nutritivo, porque se multiplica con abundancia en el agua del Sena esterilizada. En picadura en un tubo de gelatina, se forma en la superficie una tenue película blanquecina, que no llega á las paredes del vaso. Sobre patata se obtiene una membrana amarillenta y seca.

Las cobayas, en cuyos alimentos se mezcla

producto de cultivos, ofrecen al cabo de ocho días, una viva inflamación intestinal. La inyección peritoneal les hace perecer en dos ó tres días con peritonitis, pericarditis y pleuresia fibrinosas, en cuya exudación se encuentra con abundancia la bacteria. Por inoculación intestinal los resultados son todavía más evidentes. Sacrificando después de ocho días los animales operados, se encuentra la mucosa hinchada, equimosada, ulcerada; el tejido está infiltrado de bacilos, que en él forman á menudo grandes masas. El examen microscópico y los cultivos revelan la presencia del bacilo particular.

Bacilo de la diarrea verde infantil Lesage.—Existen, en los niños de la primera edad, dos variedades de diarrea denominadas *verdes,* á causa de la coloración característica de las evacuaciones. La una debe su coloración á la presencia del pigmento biliar; las deposiciones, muy ácidas, contienen ácidos y materia colorante de la bilis, cuya presencia se demuestra fácilmente por medio de las reacciones comunes; tal es la *diarrea verde biliosa*. El matiz de la otra se debe á un pigmento especial segregado por una bacteria en palitos, señalada por Damaschino y Clado y estudiada con detalles más recientemente por Lesage; tal es la *diarrea verde bacilar*. Este último experimentador logró aislar el bacilo y obtener de él cultivos puros, que ocasionaron en los animales una enfermedad semejante á la enfermedad primitiva.

Las deposiciones, en esta última variedad, son á menudo neutras y algunas veces ácidas aunque débilmente. En capa delgada son blanquecinas; en masa, parecen de color verde de espinaca, amarillo verdes ó amarillo obscuras. Examinadas al microscopio, no presentan cristales de ácidos biliares, pero muestran en gran cantidad una bacteria especial, acompañada de un número mucho menor de individuos de algunas especies que pululan siempre en el intestino. Se logra fácilmente separarlas por cultivos sobre placas y obtener de ella cultivos puros en todos los medios habituales. Esta especie es aerobia y se muestra muy exigente bajo el punto de vista de la temperatura. La mejor temperatura para su desarrollo es próximamente á 30°-35°; se desarrolla lentamente á menos de 18° y casi nada á 5°; sometidas durante cinco días á 0°, no se reproduce más.

Las dimensiones de los palitos varían según el medio de cultivo empleado. Tienen comúnmente de 2 á 4 μ de largo por 0'75 μ hasta 1 μ de ancho; en cultivos viejos, sobre gelatina principalmente, se encuentran filamentos que alcanzan 15 μ de longitud. Presentan una motilidad bien evidente; sus movimientos no son, sin embargo, muy vivos, son menos pronunciados que los del *bacilo tífico* por ejemplo. En ciertos cultivos, esos bacilos dan fácilmente esporos; los hay al cabo de 12 á 24 horas, en los cultivos sobre gelatina, son raros en los cultivos sobre patata. Esos esporos, según Lesage, son esféricos, refringentes, se colorean fácilmente con los colores de anilina y se producen en número de dos por palito, separados por un espacio claro. En los filamentos los esporos son mayores, tienen de 1'5 μ á 2 μ, dispuestos en rosarios. Estos fenómenos difieren mucho de los resultados conocidos hasta ahora para que se acepten sin confirmación ulterior. Por lo demás, Lesage no ha observado la germinación directa de sus esporos.

En cultivo sobre placas, se forman pequeñas colonias verdosas, granugientas, que no licuan la gelatina.

Inoculado en picadura sobre gelatina, este bacilo se desarrolla poco en el canal de la picadura, en donde produce una delgada línea blanquecina; en la superficie se produce un disco verdoso ora opaco, ora translúcido. En estría, el cultivo aparece en dos días á 20°; forma un velo delgado, verdoso, translúcido, con superficie lisa, sus bordes franjeados, foliáceos. La gelatina del tubo se vuelve verdosa en cuatro ó cinco días y no sufre licuación, sino únicamente algunas veces un ligero reblandecimiento de la superficie.

Sobre gelosa, suero solidificado y clara de huevo cocida, se obtienen colonias verdosas análogas.

Sobre patata, del primero al tercer día aparece un cultivo verde que se extiende lentamente por toda la superficie que cubre completamente en ocho ó diez días. La colonia tiene una superficie brillante de aspecto graso

y con bordes rectos ó un poco sinuosos. La parte superior de la patata se colorea de verde. Estos cultivos contienen un bacilo más corto y más grueso que los cultivos en los otros medios.

En el caldo el desarrollo es rápido á 30°; en cuarentiocho horas, el líquido se enturbia y deposita un sedimento verdoso.

Los cultivos despiden todos un olor insípido; en ellos se encuentran también tomainas, que todavía no se han podido estudiar.

La materia colorante no se pudo aislar. Sólo se produce con abundancia en los cultivos en presencia de un exceso de aire, lo cual concuerda con el hecho, observado desde mucho tiempo por los clínicos en estas diarreas infantiles, de que las deposiciones se enverdecen á menudo desde que se expusieron al aire. Este pigmento es insoluble en el alcohol, el éter, el cloroformo y se decolora por los ácidos.

Los bacilos de las deposiciones ó de los cultivos se colorean muy bien por todos los colores de anilina y se decoloran por el método de Gram.

La inyección subcutánea de fuertes dosis de materia de cultivo á algunos animales no produce ninguna modificación local de los tejidos y no ocasiona diarrea. El bacilo penetra sin embargo en la circulación general, porque Lesage lo encontró una vez en el bazo.

En inyección intravenosa, en el conejo, precisan grandes dosis, para obtener resultados evidentes, al menos una geringa de Pravaz de caldo de cultivo. Se producen algunas convulsiones pasajeras, y si se sacrifica el animal de treinta á cuarenta horas después de la operación, se encuentra en el intestino delgado un contenido líquido verde, en el cual pulula la bacteria especial. En los conejos que se dejan en vida, la diarrea verde aparece pronto, dura dos ó tres días, y luego se detiene; el animal cura pronto.

La misma diarrea aparece cuando se hace absorber cierta cantidad de producto de cultivo, que se inyecta directamente en el estómago ó en el intestino delgado.

La vitalidad de los cultivos resiste á la desecación pero menos al calor; una temperatura de 100° mata en diez minutos los bacilos y los esporos. El aire es, según parece, el verdadero agente de transmisión de la enfermedad tan contagiosa, en las salas de hospital ó de las casas de expósitos principalmente en donde se reunen muchos niños de teta. El bacilo vegeta lentamente en el agua, que sin duda puede transmitir la enfermedad cuando fué infestada.

Esta especie no crece en los medios de cultivo ligeramente acidulados con el ácido clorhídrico, el ácido cítrico ó el ácido láctico, lo cual prueba que el método de tratamiento por los ácidos y sobre todo el ácido láctico, establecido por Hayem, es absolutamente racional.

Bacillus neapolitanus Emmerich—Emmerich aisló esa especie de cadáveres de coléricos en Nápoles cuando la epidemia de 1884, y lo consideró, sin prueba alguna, como el verdadero agente patógeno de esta enfermedad. Lo encontró en el contenido intestinal, en la sangre y los órganos de nueve coléricos, en la autopsia, y una vez en la sangre tomada de una persona atacada de cólera asfíxico, algunas horas antes de la muerte. Ocho veces en diez casos, se encontraron *bacilos comas* en el intestino de los mismos individuos.

Consisten en palitos cortos y gruesos, que miden 1'4 μ de largo y 0'9 μ de ancho; están aislados, ó reunidos por pares, rara vez de cuatro en cuatro y completamente inmóviles. Se decoloran bien por los procedimientos ordinarios y se decoloran por el método de Gram. Se les cultiva fácilmente en todos los medios á la temperatura ordinaria; parece que pueden desarrollarse en el oxígeno.

En cultivo sobre placas, se forman en la gelatina colonias fusiformes, amarillentas, de contenido granuloso. Las que alcanzan la superficie dan pequeños islotes transparentes, formados de una parte central amarilla, bastante espesa y de una zona periférica más delgada, hialina, que aparece irisada á la luz oblicua, con bordes sinuosos, de donde parten á veces surcos radiales. Estas colonias tienen tendencia á extenderse por la superficie y no licuan la gelatina.

Sobre gelatina, los cultivos son claros, lechosos, transparentes, algo semejantes á los del *bacilo tífico*.

Sobre gelosa, la capa es más espesa, húmeda, y blanquecina.

Sobre patata, se produce, á lo largo de la estría de inoculación, una faja mucosa, coloreada de amarillo obscuro.

La acción patógena de este organismo es bien marcada, sin que presente, no obstante, nada de particular. Las inyecciones de cultivos puros hechas bajo la piel, en los pulmones y la cavidad abdominal de cobayas, de perros, de gatos y de monos, determinaron en estos animales fuertes irritaciones intestinales que, en ciertos casos, ocasionaron la muerte en cuarentiocho horas. En la autopsia, Emmerich señala un bazo normal, equimosis en el cæcum y en el intestino grueso, un hinchamiento de los ganglios del mesenterio y encuentra bacilos en todos los órganos. Pero ningún síntoma recuerda ni aun de lejos los del cólera. Weisser, que repitió estos experimentos, asegura que cuando la muerte sobreviene, lo cual es raro, sucede sin vómitos, sin diarrea y sin neurosis.

Nada viene, pues, á confirmar el papel importante atribuído por Emmerich á esta bacteria y las conclusiones á las cuales le condujeron procedimientos de investigación muy defectuosos. Koch y Flügge encontraron luego con frecuencia una especie en un todo semejante á aquella, en el intestino ó las evacuaciones del hombre y de animales en estado normal; será quizá para ellos idéntica al *bacillus coli commune* con el cual presenta grandes afinidades, de lo cual es fácil convencerse.

Bacillus cavicida Brieger.—Esta especie fué aislada de los excrementos y de las substancias en putrefacción por Brieger, que estudió principalmente la fermentación especial que provoca á expensas de las materias azucaradas.

Le constituyen pequeños palitos cuyas dimensiones varían mucho; en general, la longitud es doble de la anchura.

Dan en cultivo sobre placas de gelatina colonias de aspecto muy característico. Están formadas de anillos blanquecinos, concéntricos, irregulares, que afectan una disposición que recuerda la de las placas de escama del caparazón dorsal de las tortugas. La gelatina no se licua completamente, se vuelve viscosa.

Esta bacteria crece bien sobre patata, en donde forma una capa amarillo sucia, así como sobre suero humano solidificado. El óptimum de desarrollo es á 35°-37° sobre clara de huevo cocida y las materias amiláceas.

Descompone las soluciones azucaradas y produce entonces ácido propiónico y vestigios de ácido acético.

Los cultivos son tóxicos para las cobayas, pues las matan en inyecciones subcutáneas, en una especie de tiempo de tres á veinticuatro horas. Los animales inoculados pierden todo apetito, son atacados de una fuerte disnea y de latidos de corazón tumultuosos, vomitan y mueren súbitamente. Se encuentran numerosos bacilos en la sangre del corazón y de todos los órganos. Los conejos y ratones resisten mucho más y sólo se les puede atacar con dosis considerables. Estos mismos cultivos introducidos en el tubo digestivo, no tienen ningún efecto perjudicial.

Bacillus coprogenes fœtidus Schottelius. —Schottelius lo encontró primero en las glándulas mesentéricas y el bazo de cerdos atacados del mal rojo; luego volvió á encontrarle, casi constantemente, en el intestino de estos animales en estado normal. Este bacilo no desempeña ningún papel en la enfermedad en que fué descubierto; las ulceraciones intestinales, frecuentes en esta enfermedad, le permiten simplemente penetrar en la sangre y ganar los órganos cercanos.

Consiste en palitos semejantes al *bacillus subtilis*, pero algo más cortos y con extremos redondeados y siempre inmóviles. Cuando el oxígeno está en abundancia, producen fácilmente esporos; nunca los producen en el organismo.

En cultivo sobre placas, se observan en poco tiempo en la gelatina, pequeñas colonias de color amarillo pálido que, llegadas á la superficie se ostentan en una delgada capa pardusca transparente. La gelatina no se licua y el cultivo despide pronto un fuerte hedor de putrefacción.

El efecto patógeno de los cultivos es poco marcado. En pequeñas dosis no determinan nada; en fuertes dosis tienen una acción tó-

xica sobre los conejos; los cerdos son completamente refractarios.

Bacillus subtiliformis Bienstock.—Según Bienstock, esta especie se encuentra constantemente en las disposiciones del hombre. Los palitos, de 5 μ de longitud próximamente, son absolutamente semejantes á los del *bacillus subtilis*, pero siempre inmóviles; permanecen á menudo unidos en largos filamentos. En los artículos aislados como en los que forman los filamentos, se producen esporos elípticos muy refringentes, se colorean en el baño caliente de agua de anilina al que se adicionó fucsina y no se decoloran por el ácido nítrico al tercio. En la germinación la membrana del esporo no se rompe, pero los dos extremos se alargan primero tomando una anchura menor que la de la parte media; así se produce una especie de huso hinchado en el centro. Poco después el palito se regulariza y se pone derecho.

Los cultivos se obtienen fácilmente en todos los medios, la especie presenta un óptimo de temperatura de 37° á 39°.

Sobre gelosa se forma un ancho cultivo plegado en forma de mesenterio, de una coloración blanco amarillenta.

Este bacilo no determina al parecer ninguna especie de fermentación, y queda sin efecto en los ratones, á los cuales Bienstock la noculó.

Bacillus similis Bienstock.--Este bacilo, que Bienstock encontró con mucha frecuencia en los excrementos, es enteramente análogo al precedente en forma, dimensiones y modo de esporulación. Se distingue de él por el aspecto de sus cultivos. Produce sobre gelosa una capa blanca, brillante, primero lisa, luego desigual, que toma la forma de racimo. Crece con rapidez é invade en doce horas toda la superficie del medio nutritivo. Su acción fisiológica no es más marcada que el primero.

Bacillus albuminis Bienstock.—Acompaña muy á menudo las especies precedentes. Los palitos miden 3 μ de largo y son muy móviles. En ciertas condiciones forman largos filamentos que pueden segmentarse en artículos de 3 μ á 4 μ de largo; en estos artículos es donde se producen principalmente los esporos. El esporo nace en un extremo del palito y es mucho más ancho que él; esta parte es la que está siempre delante en el movimiento.

Sobre gelosa se obtiene una capa homogénea, blanquecina, de reflejos nacarados al principio, que se vuelve bastante amarillenta tiempo después.

Esta especie, según Bienstock, es un agente muy enérgico de descomposición de la albúmina, á la cual ataca tanto en un gas inerte como en el aire, pero con más lentitud. Sembrado en tirosina, la descompone enteramente en amoníaco, ácido carbónico y agua.

Bacillus Bienstockii Bienstock.--Bienstock lo aisló de las deposiciones, donde su presencia dista mucho de ser tan constante como la de sus otras bacterias. Consisten en pequeños bacilos semejantes á los de la *septicemia de los ratones,* pero algo más gruesos; miden 0'8 μ de largo por 0'4 μ de ancho y son completamente inmóviles. Sólo crecen con gran lentitud sobre gelosa; después de varias semanas apenas forman un ligero velo, casi invisible, que se extiende un milímetro por cada lado de la estría de inoculación.

La inoculación subcutánea de cultivos puros en ratones, determina un hinchamiento edematoso en el punto de la picadura: la muerte llega en veinticuatro horas. La serosidad del edema contiene muchos bacilos, la sangre del corazón muy pocos. La misma operación en conejos ocasiona hinchazones y rubicundeces que recuerdan las placas de erisipela; el animal sucumbe al cabo de ocho días.

Bacillus pyogenes fœtidus Passet.—Passet lo aisló del pus de un abceso del margen del ano. Este pus despide un hedor pútrido excesinamente penetrante, que se reproduce en parte en los cultivos de este bacilo.

Lo constituyen cortos palitos que miden 1'45 μ de longitud y 0'68 μ de espesor, con extremos redondeados, reunidos en pares ó más y dotados de un movimiento lento. Se cultivan fácilmente y presentan en su interior, sobre todo en los cultivos viejos, puntos brillantes que Passet considera como esporos.

En cultivo sobre placas, el desarrollo es rápido; en veinticuatro horas se aperciben en la gelatina puntitos blanquecinos. Las colonias de la superficie aumentan con rapidez y

dan manchas grises, redondeadas, que pueden alcanzar un centímetro de anchura y confluyen á menudo con las cercanas; son más gruesas y de un color blanco mate en el centro, más delgadas y casi transparentes en los bordes. No licuan la gelatina.

En picadura en un tubo de gelatina, se forma en la superficie una capa mucosa, parduzca, transparente, con bordes irregulares, y en el canal un delgado cultivo hialino formado de pequeñas colonias puntiformes. En los cultivos viejos, se ve á menudo la parte superior de la gelatina enturbiarse.

Sobre patata, el cultivo es abundante, de color pardo claro; sobre suero da una faja grisácea.

Todos los cultivos despiden un hedor fétido especial.

Los cultivos matan en veinticuatro horas las cobayas y los conejos, en inyección subcutánea. Se encuentran en el examen numerosos bacilos en la sangre, pero ninguno en los tejidos ni en el punto de inoculación. Los conejos se muestran refractarios.

Bacillus saprogenes I Rosenbach.—Rosenbach lo aisló de masas caseosas de olor pútrido, recogidas en los repliegues de las amígdalas.

Consta de grandes palitos que presentan á menudo un esporo terminal.

Cultivados sobre gelosa en estría, dan una faja opaca, gris amarillenta, espesa, ligeramente viscosa, con bordes ondulados. El crecimiento es lento; se desarrolla al cabo de un mes un olor pútrido desagradable. Sobre suero este hedor es mucho más intenso.

Este bacilo es un anerobio facultativo. Sin oxígeno, el vaho de los cultivos es repugnante.

Esta especie no parece patógena. Las inoculaciones en la pleura y la articulación de la rodilla de perros y conejos no produjeron ningún resultado.

Bacillus saprogenes II Rosenbach.—Rosenbach lo aisló de un sudor de pies fétido y abundante.

Consiste en palitos más cortos y delgados que los precedentes, que crecen rápidamente sobre gelosa. Se produce en veinticuatro horas, en toda la superficie del medio, gran número de pequeñas gotitas hialinas, que son confluentes y forman una capa primero completamente transparente, luego opaca y viscosa. Los cultivos despiden el hedor característico de sudor de pies.

Es este un anerobio facultativo; cuando se le cultiva al abrigo del aire, la fetidez de los cultivos es menos fuerte.

Los cultivos inoculados en conejos, les hacen perecer con síntomas de infección purulenta.

Bacillus saprogenes III Rosenbach.—Lo encontró Rosenbach en fragmentos de médula podrida, tomada en los huesos de miembros gangrenados. Estos bacilos son muy cortos, tienen los extremos redondeados y hacen la ilusión de micrococos.

Inoculados en estría sobre gelosa, dan, al cabo de ocho días, una faja grisácea, muy fluida y que no es viscosa. Se desprende un hedor de putrefacción.

Es también un anerobio facultativo; determina la putrefacción de la albúmina más rápidamente sin aire que con él.

Sus propiedades patógenas son poco marcadas. Inoculado bajo la piel ó en la articulación de la rodilla de conejos, no causa más que una supuración pasajera acompañada de una infiltración amarillenta difusa. Se desarrolla al mismo tiempo un fuerte hedor de putrefacción.

Bacillus oxytocus perniciosus Wyssokowitsch.—Wyssokowitsch aisló esta especie de leche cuajada.

Los bacilos son cortos con extremos redondeados, un poco más cortos y más espesos que el *bacillus lacticus*.

Forman, sobre placas de gelatina, pequeñas colonias amarillentas, granulosas, circulares, con bordes distintos. Las de la superficie alcanzan 1 $^1/_3$ mm de anchura; son grisáceas y prominentes. No producen ninguna licuación.

En picadura sobre gelatina, el cultivo afecta primero la forma de clavo, luego la colonia superficial se extiende y recubre toda superficie libre.

Este bacilo provoca la coagulación de la leche, que se vuelve ácida pero no desprende ningún olor.

Los cultivos no tienen efectos patógenos en los ratones y los conejos sino en grandes dosis. Entonces, en inyecciones intravenosas, pueden determinar la muerte en menos de un día.

En la autopsia, el síntoma característico es una viva inflamación de la mucosa intestinal.

Bacillus septicus agrigenus Nicolaier.—Consisten en cortos palitos que fueron aislados por Nicolaier, de tierra de un campo recientemente abonada. Son sobre todo notables por acción patógena. Los cultivos son virulentos para los ratones y los conejos que matan en doce ó treintiséis horas. Los síntomas son análogos á los de las septicemias del conejo cuya descripción se hizo. Se encuentran bacterias en la sangre del corazón y de los diferentes órganos; parecen pegarse con preferencia á los glóbulos rojos, sin penetrar, no obstante, en su interior.

Los cultivos se obtienen fácilmente sobre gelatina, á la cual no licuan. Las colonias de cultivos sobre placas son pequeños discos granulosos, con centro pardo, con periferia más parda; las dos zonas están separadas por un anillo más obscuro. Más tarde, estas diferencias de coloración desaparecen, la colonia es homogénea. En picadura, se forma en la superficie una capa delgada, poco característica.

Los ratones inoculados mueren entre doce y veinticuatro horas; los conejos, entre veinticuatro y treintiséis.

Los órganos, al parecer, no se alteran. La sangre de todo el cuerpo contiene numerosas bacterias, que tienen tendencia á pegarse á los glóbulos rojos.

Bacillus pyocyaneus Gessard.—Se sabe desde hace mucho tiempo que la coloración azul de la ropa blanca de curación, observada con frecuencia en los hospitales, se debe á la presencia, en el pus, de una bacteria especial cuya particularidad más interesante es la secreción de un pigmento azul, estudiado con el nombre de *piocianina*. Fordos pudo aislar esta substancia y obtenerla cristalizada; Gessard hizo un estudio más completo. Investigaciones recientes de Charrín y de Wasserzug dieron á luz las relaciones que existen entre la bacteria y el pigmento azul, la piocianina de Fordos.

Los bacilos son cortos palitos muy móviles que miden de 1 μ á 1'5 μ de largo por 0'6 μ de ancho. Están reunidos en cadenas por parejas, tres ó más, ó en pequeñas masas.

Es una especie aerobia, que puede también vivir sin oxígeno, pero entonces no produce su materia colorante. Se cultiva fácilmente á la temperatura ordinaria y mejor en estufa.

El caldo sembrado se enturbia rápidamente y toma un tinte verdoso á menudo antes de concluir el primer día. Aparece en la superficie, hacia el tercer día, una membrana blanca, seca, finamente chagrinada, frágil, que más tarde se espesa un poco y se vuelve escamosa, parda, muy frágil. Al mismo tiempo el líquido se escurre, se vuelve verde sucio obscuro y ofrece un sedimento blanco poco abundante. En los cultivos viejos, el matiz puede pasar á amarillo pardo. La coloración verde se debe á la mezcla de piocianina azul con el líquido coloreado de amarillo. Los caldos incoloros muestran un tinte azul bien perfecto, al menos al principio, más tarde se forma, por transformación de la piocianina, otra substancia amarilla, la *pioxantosa*, cuyo tinte cambia el aspecto del líquido.

En cultivos sobre placas de gelatina se observan, al cabo de veinticuatro horas á 20°, con un pequeño aumento, pequeñas colonias redondas, amarillentas, granulosas, de apariencia radiada. La jalea toma un tinte verdoso. Las colonias superficiales se rodean de un círculo de licuación que crece y da pronto un embudo, en el fondo del cual se encuentra lo restante de la colonia primitiva.

En picadura en un tubo de gelatina, todavía no hay ningún cambio apreciable al cabo de veinticuatro horas. La licuación se hace aparente en la superficie después de cuarentiocho horas y en el canal se desarrollan unas colonias muy pequeñas. Al tercer día se ha formado una pequeña cápsula, que crece al día siguiente y se rodea de una delgada zona coloreada de verde claro; la licuación empieza á progresar en la picadura. Después de ocho días, la cápsula de licuación alcanzó los bordes del tubo, el matiz verde se extiende en la jalea á 1 centímetro de altura próximamente. La licuación progresa con mucha lentitud y, paralelamente á ella, la coloración.

Sobre gelosa, se forma una capa mucosa, grisácea semitransparente, mal deslindada, que al cabo de algunos días ofrece reflejos nacarados. Al mismo tiempo la parte superior de la jalea presenta una hermosa fosforescencia verde, que se extiende gradualmente á las capas profundas. En los viejos cultivos, la superficie es nacarada, parece sembrada de fragmentos de escamas de pez; la jalea se colorea de verde pardo y á menudo de moreno obscuro. El reflejo nacarado parece debido á la presencia de masas de largos cristales en aguja.

Sobre patata, el *bacilo del pus azul* da una capa mucosa pardusca, que en pocos días presenta reflejos nacarados. Cuando se quita una porción de colonia, la substancia subyacente del tubérculo, expuesta al aire, toma un tinte verde que se acentúa por el amoníaco y se va volviendo rojo bajo la influencia de los ácidos. Al envejecer toda la patata toma un color pardo rojizo obscuro.

Sembrado en leche, precipita la caseína y luego la disuelve; al mismo tiempo se desprende amoníaco. La masa líquida toma un tinte verdoso.

Todos estos cultivos despiden un hedor ligeramente fecaloide; los viejos tienen á veces un olor dulce, semejante al de la cumarina. Los cultivos sobre zanahoria emiten un olor de fresas bastante fugaz, pero muy perfecto, que se vuelve fecaloide al envejecer. El olor se encuentra en la ropa blanca de las curas; se deja también adivinar la presencia de pus azul antes de abrir la herida.

La *piocianina* se extrae fácilmente y mejor en los caldos en que se desarrolla la bacteria, antes que los progresos de la edad les haya hecho tomar el tinte pardo.

Fordos lo extraía de los lienzos de la herida, á los cuales trataba por el agua amoniacal. El líquido, agitado con cloroformo, le cedía la piocianina que se puede extraer cristalizada.

Gessard perfeccionó este procedimiento y lo aplicó á los cultivos, lo cual permite obtener cantidades mucho mayores de producto. Los caldos de cultivo se alcalizan con amoníaco y se agitan con cloroformo. Este último se apodera de la piocianina y se colorea de un hermoso azul de cielo obscuro. Disuelve al mismo tiempo las impurezas, principalmente las materias grasas. Se filtra y agita con agua acidulada con ácido sulfúrico ó con ácido clorhídrico. La piocianina pasa, en el agua acidulada, al estado de combinación roja. El cloroformo retiene las materias grasas y la materia amarilla que, según sabemos, acompaña la piocianina y de la cual procede la pioxantosa. La disolución acuosa roja, decantada, se satura por la potasa ó el amoníaco; se vuelve roja. Se filtra y se trata por el cloroformo que arrastra la piocianina, á la cual abandona por evaporación. Resulta una masa confusa, de pequeños cristales, de un color azul obscuro, que se aproxima al índigo. Volviendo á disolverla en agua destilada y abandonándola á evaporación lenta, se obtienen numerosas agujas aisladas ó reunidas en penachos ó en estrellas, que son octaedros ó tablas rómbicas.

La piocianina es soluble en el agua, más en caliente que en frío, en el alcohol, en el cloroformo, lo es menos en el éter; su sabor es amargo. Los ácidos la hacen pasar al rojo y forman con ella compuestos cristalizables; se la debe considerar como una base y referirla quizás á las tomainas. El aire y toda oxidación la hace pasar al estado de pioxantosa que cristaliza en pequeños penachos amarillos. La piocianina no parece tóxica ni aún en fuertes dosis.

Los cultivos son sin embargo patógenos para los pequeños animales, la cobaya principalmente, menos para el conejo. Charrín estudió, en tiempo reciente, su efecto sobre este último animal y da interesantísimos detalles respecto á los fenómenos paralíticos, que causan en él la inyección intravenosa de caldo de cultivo. En pequeñas dosis, algunas gotas, después de una duración de incubación que varía de quince días á dos meses, según la dosis, la virulencia del cultivo y las disposiciones individuales, se produce ora una simple debilidad, una verdadera parálisis motriz. Los miembros posteriores son los primeros atacados. La sensibilidad á la picadura se embota pero no desaparece nunca. La muerte llega casi siempre en un tiempo variable. Sólo pueden sobrevivir cuando los cultivos son poco virulentos ó las dosis menos fuertes. La

inyección subcutánea nada produce en dosis medianas; repitiendo cierto número de veces la operación, se logra conferir al animal tratado una inmunidad contra las inyecciones intravenosas. El mismo resultado puede alcanzarse empleando caldos filtrados con porcelana, libres de todo elemento vivo; se produce pues por substancias solubles procedentes de la vegetación de la bacteria.

La materia colorante no se produce sin aire, como tampoco en el aire confinado ó en el oxígeno puro. Dosis calculadas de antisépticos pueden impedir la reproducción del pigmento, dejando que la vegetación se verifique. Según Charrín y Roger, 0'03 gr. de sublimado por litro impiden la formación de piocianina; la bacteria no muere sino por 0'04 gr.

La adición de ácidos ó de antisépticos á los caldos de cultivo, en proporciones insuficientes para causar la muerte de las bacterias, determina modificaciones secundarias de forma que señalaron Guignard y Charrín. Se pueden observar en estas condiciones, haciendo variar la composición del medio, cortos palitos, largos bacilos, filamentos rectos ú ondulados; además no se observa la formación de piocianina. Pero lo que demuestra con toda evidencia que estas formas sólo tienen una importancia secundaria es que desde que se transportan estos elementos modificados á un medio nuevo y se les coloca en buenas condiciones, la forma normal reaparece y con ella, en muy poco tiempo, la piocianina.

El *bacillus pyocyaneus* y por consiguiente la piocianina no son especiales del pus azul. Schwartzenbach aisló piocianina del sudor azul de un tetánico y Andouard del sudor azul de un albuminúrico. Otras secreciones, teñidas de azul de un modo anormal, deben sin duda su coloración á la misma causa.

En el caso de supuración azul, el fenómeno no parece tener influencia ni sobre el estado local de las llagas, ni sobre el estado general del enfermo. Los antiguos quirúrgicos le consideraban, por el contrario, como un pronóstico favorable. La coloración azul de las heridas, frecuente antes, se hace rara hoy, gracias al empleo de los métodos antisépticos y de curación de Lister.

Bacillus indicus Koch.—Koch lo encontró en la India en el contenido estomacal de un mono. Esta especie produce una hermosa materia colorante roja, muy parecida al pigmento del *micrococcus prodigiosus,* de un tinte amarillo, sin embargo, que recuerda el rojo de ladrillo.

Son bacilos muy cortos, diminutivos, con extremos redondeados, más móviles que las células de *micrococcus prodigiosus*. Se cultivan fácilmente en todos los medios á la temperatura ordinaria, pero presentan un óptimum de vegetación á 35°.

En cultivos sobre placas, se distinguen en un día en la gelatina, pequeñas colonias amarillentas de bordes sinuosos. Las de la superficie son mayores ó más claras. La gelatina se licua rápidamente.

En picadura en un tubo de gelatina, la licuación se verifica tan aprisa como en el *micrococcus prodigiosus*. La parte superior del líquido se colorea de rojo de ladrillo.

Sobre gelosa, se forma primero una faja blanca que enseguida se vuelve de color rojo de ladrillo; los bordes del cultivo que son anchos permanecen á menudo blancos. El suero se licua; los cultivos sobre este medio se colorean poco ó nada.

Sobre patata, se obtiene, por inoculación en estría, una capa espesa, de color encarnado, diferente de la colonia purpurina que en este medio produce la otra especie.

La materia colorante es insoluble en el agua y soluble en el alcohol. La solución es de color rojo de ladrillo; tratada por el amoníaco va pasando á púrpura y se hace semejante á la solución de pigmento del *micrococcus prodigiosus;* el ácido acético la devuelve el color primitivo.

Pero la principal diferencia entre las dos especies es su acción sobre el organismo animal. Mientras que fuertes dosis de *micrococcus prodigiosus,* inyectadas en la sangre, no provocan ningún desorden en los conejos, una proporción, bastante grande aunque menos fuerte de *bacillus indicus,* introducida por la misma vía, mata estos animales en un tiempo muy corto, de tres á veinticuatro horas comúnmente. Casi inmediatamente después de la operación son atacados de una diarrea muy

violenta. Se encuentran en la autopsia signos de una gastroenteritis aguda y con frecuencia la mucosa intestinal ulcerada.

BACILLUS MURISEPTICUS Koch.—Koch determinó en los ratones domésticos, una septicemia particular, inoculándoles bajo la piel líquidos de putrefacción. Pudo producir la misma enfermedad sirviéndose de agua del Panke, río cenagoso que arrastra toda clase de detritus. Gaffky volvió á ocuparse después del estudio de esta enfermedad.

Los bacilos, que se encuentran con abundancia en la sangre, son muy delicados y miden de 0'8 μ á 1 μ de longitud, por una anchura mínima de 0'1 μ á 0'2 μ; son inmóviles y están á menudo reunidos en pares. Se asemejan, hasta el punto de confundirlos á simple vista según Koch, á finas agujas cristalinas, pero se las distingue fácilmente coloreándolas. Permanecen coloreadas después de tratadas por el método de Gram.

En cultivos sobre placas de gelatina, forman en el espesor de la jalea, pequeñas colonias filamentosas, blanquecinas, y nada en la superficie. La jalea no se licua.

En picadura en la gelatina, se aperciben, al cabo de algunos días, numerosos filamentos bien deslindados, partir de la picadura para irradiar en la masa que la rodea. La picadura está rodeada, cuando el desarrollo se hace en mucho tiempo, de un matiz blanco que puede invadir la mayor parte del tubo (fig. 135). Este bacilo se asemeja en un todo al *bacilo del mal rojo del cerdo*.

Sobre gelosa, se desarrollan, á lo largo de la estría de inoculación, colonias redondas, aisladas, de una coloración blanco amarillenta. Nada se observa sobre suero.

La sangre de ratones muertos es de una virulencia extremada. La menor porción inoculada á nuevos animales los mata rápidamente. Los cultivos lo son menos, y se precisa una proporción más fuerte para determinar los mismos accidentes. Los ratones inoculados mueren de cuarenta á sesenta horas después. Se presentan primero muy abatidos; los párpados caen, los ojos se vuelven lacrimosos. El pelo se eriza, el dorso se encorva y el animal muere arrollado sobre sí mismo.

En la autopsia se encuentra un ligero edema en el punto de inoculación; el bazo entumecido. Existen numerosos bacilos en la parte edemática, en la sangre de la circulación general y en la de los capilares de los órganos. Koch señaló la presencia frecuente en los glóbulos blancos; allí parecen multiplicarse, invadir completamente la célula y hacerla desaparecer; se puede encontrar toda la serie de los diferentes estados de este proceso.

Los ratones del campo son completamente refractarios á las inoculaciones más virulentas. Las palomas y gorriones contraen la enfermedad y presto mueren de ella. Los conejos pueden sucumbir á fuertes dosis, pero á menudo resisten y no presentan más que fenómenos locales, simples rubicundeces erisipelatosas por ejemplo, en el punto de inoculación. Según Löffler, estos conejos se habrían vuelto refractarios á inoculaciones virulentas.

BACILO DE LA SEPTICEMIA GANGRENOSA DE LA RANA.—Las ranas, conservadas en los aquariums, presentan á menudo mutilaciones de los dedos y hasta de toda una porción de miembro. La enfermedad, que se observa principalmente en los pulgares de las manos, empieza por una tumefacción de las falanjes; la piel se vuelve roja y se gangrena, mientras que el hinchamiento llega al antebrazo. Los músculos de la parte interesada se disgregan; sólo quedan, al cabo de ocho días, los huesos y los tendones; luego la necrosis les ataca. Esta gangrena puede notarse en los cuatro miembros y en el esternón, en la faz interna de las piernas, en que la piel reposa directamente sobre los huesos. El animal cae la mayor parte de las veces en un estado de sopor excesivo, luego muere. La cura puede hacerse perdiendo una porción más ó menos considerable del miembro lesionado.

En la autopsia se encuentran las lesiones típicas de las enfermedades septicémicas. El hígado se vuelve muy quebradizo, toma un color bajo, pardusco y pizarreño; el bazo es rojo blanco. Todo el intestino es hiperemiado, hinchado por un mucus espeso, sanguinolento, espumoso.

Legrain, que estudió esta enfermedad, demostró que era contagiosa é inoculable, y que se debe á bacterias que se encuentran con abundancia en la sangre y la serosidad de las

partes atacadas principalmente, que él pudo aislar en cultivos puros, por medio de los cuales logró reproducir los desórdenes observados.

Son cortos palitos muy móviles, que miden 1'8 μ de largo y de 0'6 μ á 0'8 μ de ancho, y que se colorean bastante bien por los colores de anilina, pero que ceden su color con una facilidad extrema. A menudo sólo se colorean los dos extremos y pueden ocasionar la ilusión de diplococos. En los cultivos viejos, se encuentran elementos redondeados, de 0'4 μ á 0'6 μ de diámetro, más móviles, que son quizás esporos. Son aerobios y se cultivan fácilmente en todos los medios.

En cultivo sobre placas, se forma en un día á 22°, pequeñas colonias circulares, granulosas. El centro se vuelve más sombrío, rodeado de un anillo filamentoso, luego de una zona periférica clara de gelatina licuada. La licuación se verifica desde entonces muy aprisa.

En picadura en la gelatina, la licuación es igualmente rápida; se produce en muy poco tiempo un ancho embudo, lleno de un líquido turbio, á la punta del cual se deposita un sedimento espeso grisáceo. La gelatina licuada es muy alcalina.

Sobre gelosa á 30°-35°, en tres días, se puede obtener una ancha faja de un color blanco grisáceo mate, muy friable.

Sobre patata, el cultivo es espeso, amarillo, con bordes sinuosos, con un olor especial que recuerda un poco el de tabaco mojado.

En el caldo, en diez horas se observa ya un ligero enturbiamiento que se acentúa y da un depósito filamentoso ligero.

Los cultivos son virulentos. La inoculación de pequeñas dosis da siempre resultados positivos. La inyección en los sacos linfáticos determina una verdadera septicemia, sin accidentes locales, con síntomas viscerales que recuerdan los indicados al principio. El hígado está muy modificado, es moreno casi negro, muy friable, repleto de sangre; las células hepáticas están alteradas, se encuentran bacterias aún en su interior. El bazo se hipertrofia. El estómago y el intestino se llenan de mucus espumoso, rojizo; las glándulas están muy alteradas. Las picaduras á los miembros anteriores pueden no determinar más que accidentes locales curables; en cuarentiocho horas el miembro se entumece y se vuelve rojo. La infección puede generalizarse, la rana no tarda entonces en sucumbir. La introducción de fuertes dosis en el estómago no produce ningún desorden. Las cobayas nada presentan.

La virulencia no permanece idéntica en los diversos cultivos. Los hechos sobre patata son más activos. Los cultivos sobre gelatina pierden muy pronto su vitalidad; pero ocurre el hecho interesantísimo, que recobran su virulencia haciéndoles pasar sobre patata. Este es uno de los hechos más claros de recuperación de virulencia por un cambio de medio de cultivo que se haya señalado.

Bacillus alvei Watson-Cheyne y Cheshire. —Watson-Cheyne y Cheshire lo aislaron de una enfermedad que se ceba con frecuencia en Inglaterra en las abejas. Allí es conocida con el nombre de *Fool-brod* y diezma principalmente las larvas, que mueren en poco tiempo tomando un color amarillento y volviéndose muy blandas.

Se encuentra en el líquido recogido en el cuerpo, numerosas bacterias en palitos, lentamente móviles que miden 3'5 μ de largo por 0'8 μ de ancho, con extremos redondeados. Después de la muerte de las larvas, los bacilos dan esporos muy característicos. Son ovales, mucho mayores que los palitos que se hinchan entonces considerablemente en el punto en que se forman; alcanzan 2'12 μ de largo por 0'07 μ de ancho. Los palitos se encuentran á menudo pegados en hileras bastante grandes según la longitud; los esporos que se forman guardan esta situación después de la desaparición de la membrana de su célula madre (fig. 136). Los bacilos se colorean bastante bien y no se decoloran por el método de Gram. Los esporos se colorean en caliente en un baño preparado con agua de anilina.

El *bacillus alvei* se cultiva fácilmente á una temperatura de 15°-20°. Los elementos de los cultivos son á menudo más largos y forman á veces filamentos. Los esporos se producen bastante bien en los palitos aislados y en los filamentos.

En cultivo sobre placas, se forman, al cabo de poco tiempo, pequeñas colonias ovoideas,

de uno de cuyos extremos parten numerosos prolongamientos que irradían en la gelatina. Estos tractos de espesor desigual que comprenden en anchura, según el punto, uno, dos, tres ó más palitos, pueden separarse de la colonia primitiva y permanecer aislados en la jalea. La licuación se produce lentamente, en derredor de cada una de estas prolongaciones primero.

En picadura en un tubo de gelatina, el desarrollo es curioso. Se producen, en la superficie y á lo largo del canal, prolongaciones radiales que penetran en la gelatina bajo la forma de largos filamentos. La licuación es lenta, invade progresivamente toda la longitud del tubo; en el fondo se deposita un sedimento blanco y filamentoso.

Sobre gelosa y sobre suero, el cultivo da una delgada capa blanquecina opaca; sobre patata, una capa amarillenta.

Cultivada en leche, esta especie provoca rápidamente su coagulación. El coágulo formado se disuelve y sólo se encuentran restos de ácido. Es probable que el cuajo sea segregado al principio para coagular la caseína y preparar la acción de la diastasa, que la disuelve enseguida.

Todos los cultivos despiden un olor insípido de orina.

Los autores citados pudieron reproducir una enfermedad que tenía todos los visos del *fool-brod,* en las avejas y las moscas criadas con substancias infestadas por medio de cultivos puros.

Las inyecciones subcutáneas, verificadas en ratones y conejos, no han mostrado ninguna acción nociva bien evidente. Un ratón muere en un día ofreciendo simplemente un hinchamiento edematoso en el punto de inoculación. La serosidad del edema contiene numerosos bacilos. Una cobaya muere en seis días mostrando en el punto de la picadura una necrosis de la piel y de los músculos superficiales.

Vignal creyó volver á encontrar el *bacillus alvei* entre las bacterias de la boca. Su *bacilo d,* que asimila á esta especie, da colonias de aspecto semejante á las del *bacillus alvei,* pero los esporos que se observan muy fácilmente en los cultivos viejos no tienen un diámetro superior al del artículo en que se forman. Los palitos jamás presentan en los puntos en que se forman los esporos, los abultamientos característicos. La especie de Vignal se aproxima mucho más al *bacillus Zopfii.*

Bacillus Zopfii Kurth.—Fué encontrado por Kurth en el intestino y en el contenido del apéndice vermicular de pollos muertos de una enfermedad contagiosa poco conocida. El mismo autor, habiéndola obtenido en el contenido del apéndice vermicular de otros dos individuos sanos, la considera como especie saprofita. Se ha aislado de sangre de hígado de patos atacados de una enfermedad epidémica no descrita, sacrificando los individuos antes de la muerte para evitar la introducción en la sangre de individuos extraños. Las inoculaciones no tienen, sin embargo, ningún efecto sobre los diversos animales en que se experimenta.

Consisten en cortos palitos de 2 μ á 5 μ de largo por 0'7 μ á 1 μ de ancho, muy móviles, pudiendo crecer en largos filamentos rectos, ondulados, á veces apelotonados sobre sí mismos, formando así de trecho en trecho una especie de *nudos* de grueso variable (fig. 91, A *a, c).* Estos filamentos se segmentan en un momento dado y se muestran formados de palitos nuevos dispuestos en filas ó en masas (figura 91, B *a, b, c).* Finalmente, cuando el cultivo envejece, las masas de palitos se transforman en elementos esféricos (fig. 91, C), que Kurth describió como cocos, pero que todas sus propiedades hacen se consideren como esporos. Llevadas á otro medio jamás se divisan, pero se transforman directamente en un palito. Se colorean con más lentitud que los palitos comunes y guardan más tiempo su color. La desecación que hace perecer muy pronto los palitos, respeta estos cocos. Mientras que una temperatura de 50° mata infaliblemente á los primeros, los elementos redondos no mueren hasta más allá de 70°. Es preciso confesar que estos caracteres convienen mejor á esporos que á *micrococcus.* Comúnmente, seis días después de haber sembrado en la gelatina, los palitos han desaparecido y cedido su lugar á los cocos.

En cultivo sobre placas de gelatina, el aspecto de las colonias es bastante característi-

co, si bien que varias otras especies poco conocidas hasta ahora han ofrecido el mismo aspecto. Entonces se forman en dos ó tres días, pequeñas masas blanquecinas, filamentosas, que se asemejan en un todo microscópicamente á un tierno micelio de moho. Las finas ramificaciones están constituídas por palitos pegados longitudinalmente en número variable, poco considerable comúnmente, y dispuestas en largas filas cuyo espesor varía por puntos, según el número de elementos que allí se encuentran. Se pueden encontrar largas filas sinuosas formadas de uno ó de dos palitos solamente, ó de nudos espesos producidos por la adherencia de gran número de estos elementos. La gelatina no se licua ó sólo después de mucho tiempo, si la placa se mantiene intacta y al abrigo de toda desecación.

En picadura en la gelatina, se presenta en veinticuatro horas, un delgado cultivo en el canal y una pequeña colonia transparente de relieve en la superficie. Dos días después, se observan en la superficie filamentos desligados, blanquecinos, que parten del surco de la picadura é irradían en la jalea ambiente. El desarrollo de estos filamentos continúa los días siguientes; se producen principalmente en la parte superior de la jalea, cuyas capas superficiales ofrecen un enturbiamiento filamentoso bastante pronunciado hasta 1 ó 2 milímetros de profundidad. Los filamentos cercanos á la superficie se encorvan en la parte superior y se dirigen hacia la parte expuesta al aire; los que allí desembocan terminan en un ensanchamiento en forma de botón. La colonia superficial ha crecido poco durante este tiempo. La gelatina empieza á reblandecerse después de varias semanas, luego se licua en una pequeña extensión. El líquido es claro y corona un depósito filamentoso blanco.

Si se inocula en estría un tubo de gelatina cuya superficie está inclinada, se produce muy aprisa, en la masa de la jalea á cada lado del surco, un mechón de filamentos irregulares, sinuosos, entrecruzados, pero no se produce ningún cultivo en la superficie. La licuación se verifica, pero muy tarde.

Sobre gelosa á 30°, se forma al principio un delgado cultivo á lo largo de la estría y á ambos lados en la jalea progresivamente, masas que parecen de fino plumón. La mayor parte de la jalea puede ser invadida y volverse opaca. En la superficie libre se nota la aparición de pequeñas gotitas transparentes.

Sembrada en caldo, esta especie desarrolla primero un velo delgado y frágil; el líquido se enturbia. Los palitos de estos cultivos son algo más largos que los otros, miden de 3 μ á 5 μ; muchos muestran en un extremo un gran esporo elíptico, de 2 μ de largo por 1'5 de ancho.

El aspecto tan particular de los cultivos en medios sólidos tiene tal vez por causa la débil existencia de este bacilo á la desecación, lo cual le obliga á evitar el contacto inmediato del aire.

Si bien que esta especie es muy parecida á las que Hauser reunió con el nombre de *proteus*, es, no obstante, bien distinta, por más que se esfuerce en contra Schedtler. Se adquiere esta convicción por un estudio detallado de los dos tipos. Se parece sin embargo mucho por ciertos caracteres, en particular por el desaloje en la gelatina de los filamentos de cultivo, que, menos sensible que en el *proteus*, no se aprecia con menos facilidad. Esta es una de las formas que unen tan íntimamente los *proteus* á los verdaderos bacilos, que casi no es posible á un observador que haya hecho un estudio profundo de ellos, separarlos genéricamente. Otros tipos poco conocidos todavía deben agruparse en derredor del *bacillus Zopfii;* en particular una especie que Vignal aisló de la saliva; es su *bacilo d* que equivocadamente asimila al *bacillus alvei*.

Bacilo de la sífilis Lustgarten.—Lustgarten anunciaba en 1884 el descubrimiento, en las secreciones y tejidos sifilíticos, de un bacilo especial, que se distinguía principalmente por su situación en el interior de las células emigratrices y el modo como se comportaba con las diversas materias colorantes.

El procedimiento de coloración que él indica es bastante particular. Las láminas preparadas con las secreciones ó los cortes de los tejidos enfermos, se someten por espacio de doce á veinticuatro horas, á la acción de un baño coloreante de agua de anilina á la que

se adicionó violeta de genciana, y se llevan enseguida á la estufa á 40° durante dos horas. Se lavan las láminas con agua destilada y los cortes con alcohol; luego se les sumerge durante diez minutos en una solución de permanganato de potasa al 1 por 100. Se forma en todo su alrededor un precipitado filamentoso, pardusco, de óxido de manganeso. Las preparaciones se pasan entonces por una solución acuosa concentrada de ácido sulfuroso, que debe ser recientemente preparada haciendo obrar el ácido sulfúrico sobre limaduras de cobre, y conservada en pequeños frascos bien tapados y que se abren sucesivamente para el uso. Se lava con agua destilada, luego se repasa en el permanganato de potasa y el ácido sulfuroso, y así sucesivamente, tres, cuatro y seis veces, hasta la decoloración completa. Las preparaciones se lavan entonces, se deshidratan por el alcohol, se aclaran por la esencia de cedro y se arreglan en el bálsamo.

Giacomi, que encontró un bacilo semejante en las secreciones sifilíticas, sigue un método más sencillo. Colorea en el agua de anilina á la que adiciona fucsina, la mantiene hirviendo, luego la trata por una solución débil de percloruro de hierro, obtenido por la mezcla de dos ó tres gotas de solución concentrada con 50 gramos de agua. El percloruro ácido parece más conveniente.

Doutrelepont y Schütz encontraron con frecuencia el bacilo de Lustgarten coloreando los cortes por medio de una solución acuosa de violeta de genciana y decolorándoles por medio de ácido nítrico muy diluído, en solución al $^1/_{10}$ y al alcohol á 60° durante diez minutos. Una doble coloración es fácil con la eosina ó la safranina.

Leloir afirma haber empleado con buen resultado este último procedimiento de coloración.

Alvarez y Tavel encontraron en gran número las secreciones patológicas no sifilíticas, en particular en el esmegma prepucial, un bacilo idéntico por su forma y sus reacciones colorantes al bacilo de Lustgarten. Parece situarse con preferencia en el interior ó en la superficie de las células epiteliales, lo cual le asemeja todavía á este último. Demostraron además que faltaban ambas en buen número de lesiones sifilíticas, secundarias ó terciarias.

Proceden del modo siguiente: las láminas ó los cortes se colorean en un baño caliente de agua de anilina, á la cual se ha adicionado fucsina; luego se lavan y se pasan durante quince ó veinte minutos por el ácido nítrico al tercio, en fin, se lavan con agua destilada. La preparación, secada á un calor moderado, se arregla en el bálsamo.

Los diversos procedimientos de coloración empleados para el *bacilo de la tuberculosis* dan también buenos resultados. Este último, sin embargo, resiste mucho tiempo el ácido acético glacial, cuando el *bacilo del esmegma* es decolorado por él en menos de dos minutos.

Los caracteres de los bacilos descritos por estos diferentes autores son idénticos; casi no es posible separarlos hasta que no se indiquen otros signos particulares. Esto quita naturalmente al bacilo de Lustgarten la importancia que éste le había atribuído. Los cultivos no dieron buenos resultados en ningún caso.

Estos palitos tienen una longitud que varía entre 3 μ y 7 μ con una media de 4 μ y una anchura de 0'3 μ. Son á menudo ondulados, ó encorvados en S; los individuos cortos tienen á veces la forma de bacilos comas. Presentan con frecuencia vacuolas ovoideas que Lestgarten considera como esporos, y parecen á veces moniliformes, como los *bacilos de la tuberculosis*. Las dimensiones, la forma y las reacciones colorantes los asemejan mucho á esta última especie, hecho de gran importancia bajo el punto de vista del diagnóstico de las enfermedades de las vías génitourinarias, y que es preciso tener en cuenta, para no creer inconsideradamente en una tuberculosis. Hemos visto que de ella se distingue por su decoloración rápida por el ácido acético cristalizable.

BACILO DEL RINOSCLEROMA.—Es una enfermedad rara en Europa, bastante común en la América central, caracterizada por el espesamiento y la induración de la mucosa nasal y de la piel de la nariz y de las partes cercanas. Se forman, en estos tejidos, placas ó nudosidades duras, salientes, dolorosas á la presión. La enfermedad se debe á la pululación, á menudo excesiva, en los linfáticos y en el interior de las células, de bacterias especiales. La

marcha es en general muy larga; la alteración parece que no puede producirse fuera del lugar isfestado. El estudio fué hecho principalmente por Cornil y Alvarez.

Las bacterias descritas tienen dimensiones muy variables. Por término medio su longitud es de 2'5 μ á 3 μ y su anchura de 0'6 μ á 0'8 μ; se encuentran, no obstante, individuos perfectamente redondos y otros que pueden alcanzar hasta 7 μ. Se les colorea bien con las soluciones ordinarias, en cortes ó en preparaciones hechas con líquido exprimido de los tejidos enfermos; el método de Gram los decolora muy poco. Están rodeadas de una especie que permanece á menudo débilmente coloreada después de la decoloración ó que se logra teñir con una doble coloración por medio de la safranina.

Paltauf, Eiselsberg y Dittrich obtuvieron cultivos que recuerdan absolutamente el *neumococo* de Friedländer, al cual todavía se aproxima más esta especie por sus formas y la presencia de una cápsula. Las inoculaciones experimentales producen efectos semejantes á los determinados por el *micrococcus pneumoniæ*. Estas dos especies quizás no debieran separarse.

Bacilo del cáncer.—La contagiosidad de los tumores malignos, carcinoma y sarcoma especialmente, fué por mucho tiempo sostenida por empíricos muy eminentes, sin que, no obstante, ningún experimentador haya podido suministrar en su apoyo pruebas bien evidentes. Lo mismo sucede respecto á la presencia en estas enfermedades de una bacteria especial señalada recientemente, cuya naturaleza, caracteres y acción patógena, no han sido todavía suficientemente probadas para que se tenga derecho á defenderla de toda duda, tan necesario y sobre todo tan científico en semejantes cuestiones.

Rappin había señalado en 1886, en la *Gaceta medical de Nantes*, la presencia constante de bacterias en los tumores cancerosos de diversa naturaleza. Consistían en diplococos de 1 μ á 1'5 μ de largo, que licuan la gelatina y que se cultivan fácilmente en todos los medios. Nada se puede concluir en absoluto de los resultados experimentales anunciados.

Scheurlen pudo aislar, por el cultivo de los tejidos cancerosos, una bacteria especial que considera como el verdadero agente patógeno de la enfermedad.

Los cultivos dan buenos resultados principalmente sobre suero solidificado. Scheurlen usó con preferencia serosidades patológicas de la pleuresia, de la ascitis y del hidrocele. Los tubos preparados se siembran con fragmentos de tumor ó con jugo de raspadura tomado con las condiciones antisépticas requeridas, desde la autopsia ó mejor desde la ablación cuando se trata de tumores operados en buenas condiciones, antes de la ulceración, de cánceres del pecho por ejemplo. Colocando estos tubos en la estufa á 39°, se empieza á notar desde el tercer día, que toda la superficie se cubre de una película incolora que se pliega poco á poco y toma, después de algunos días ó algunas semanas, un color amarillo pardusco; á menudo en esta película aparecen diseminadas pequeñas gotitas líquidas.

Estos cultivos están formados de bacilos cortos y gruesos, que miden de 1'5 μ á 2'5 μ de largo y 0'5 μ de ancho, animados de un movimiento lento de oscilación. Muchos encierran esporos elipsoidales brillantes de 1'5 μ por 0'8 μ. Los bacilos se colorean fácilmente; pero cuando se les trata por el método de Gram, se decoloran en parte por el paso al alcohol; los extremos permanecen coloreados. Los esporos se colorean permaneciendo de media á una hora en un baño hirviente de agua de anilina; conservan su coloración cuando se les trata por el ácido nítrico al tercio. Estos esporos, dice Scheurlen, se pueden encontrar también en el examen microscópico, en el jugo canceroso. Los bacilos son más difíciles de reconocer; el autor citado jamás pudo hacer constar su presencia en los cortes del tejido.

Los bacilos de los cultivos sobre suero pueden crecer sobre gelosa. En ella forman al cabo de doce horas á 39°, una película brillante, incolora, constituída únicamente por palitos. Los esporos aparecen de doce á veinticuatro horas. Se nota á veces un ligero velo que parte de la estría y penetra en la jalea. Los resultados son menos seguros inoculando

fragmentos de tumores; Scheurlen sólo logró en este caso obtener cultivo seis veces en setenta casos.

El desarrollo se hace también sobre gelatina, pero es muy lento. En picadura, se observa al cabo de ocho á quince días, la formación en la superficie, sin licuación apreciable, de una depresión cupuliforme, que se reviste de una película rizada.

Sobre patata, esta bacteria forma, de doce á veinticuatro horas, una película amarilla, rizada, que se ostenta en toda la superficie.

En los caldos se produce un velo rizado; en el fondo del vaso se deposita un sedimento negro pardusco.

La inoculación de producto de cultivo no dió resultados muy demostrativos. Perras que recibieron inyecciones en las glándulas mamarias, ofrecieron en el lugar de la inoculación pequeños tumores blandos, que alcanzaban del tamaño de una habichuela al de una nuez, en cuyo tejido Scheurlen pudo hacer constar la presencia de los bacilos de los cultivos. Basándose principalmente en estos resultados, que él llama ligeramente positivos, dicho autor se cree autorizado á considerar la bacteria que él aisló, como el verdadero factor etiológico del cáncer. El estudio como se ve necesita todavía que se vuelvan á ocupar de él, extendiéndolo y profundizándolo, tanto más cuanto que sería curioso ver un organismo cuya vegetación en cultivos es tan rápida, evolucionarse tan lentamente en el cuerpo humano y determinar en él una enfermedad de término tan prolongado, en cierto modo crónica, cuando parecería más en relación con su vitalidad ocasionar una marcha rápida y aguda.

Ballance y Shatlock, experimentando como Scheurlen, sólo excepcionalmente obtuvieron cultivos; la mayor parte de sus tubos permanecieron estériles.

Por el contrario, Domingos Freire, conocido por sus trabajos sobre la fiebre amarilla, confirma los resultados obtenidos por Scheurlen y disputa aún á este último su derecho de prioridad.

Bacilos en el coqueluche.—Diversos autores señalaron en el coqueluche, contagioso en alto grado, la presencia de bacterias que encontraron en abundancia en el mucus expectorado. No se dió ninguna prueba experimental.

Afanassieff encontró en diez casos que examinó, constantemente una especie de bacteria en finos palitos, de 0'6 μ á 2'2 μ de largo, muy abundante en los esputos, sin que parezca tener ninguna relación con los elementos celulares que contienen.

Esta especie da, en cultivo sobre placas, pequeñas colonias parduscas, redondas ú ovales, que no licuan la gelatina.

En estría sobre gelatina ó gelosa da una capa blanquecina en la superficie y nada en el interior.

Sobre patata forma un cultivo espeso, amarillo al principio, luego parda, que cubre rápidamente toda la superficie.

Los palitos de los cultivos son muy móviles. Se producen esporos en los cultivos viejos.

Las inyecciones traqueales hechas en perros y gatos jóvenes, determinaron bronquio-pneumonías en estos animales; algunos tuvieron accesos típicos de coqueluche.

Bacilos en la malaria.—Es antigua la opinión de que la intoxicación palustre se debe á la penetración de organismos en la sangre. Las sospechas se aplicaban, pero sin pruebas, á los séres inferiores, algas principalmente, que se desarrollan en abundancia en las regiones cenagosas, en que reina la fiebre intermitente.

Lemaire fué uno de los primeros en examinar las bacterias sin precisar nada no obstante. Más tarde, Klebs y Tommasi Crudeli retiraron del limo de regiones en que la enfermedad es endémica bacilos que consideraron como los verdaderos agentes específicos. Son palitos largos de 2 μ á 7 μ que aun pueden en ciertas condiciones crecer en filamentos ondulosos. Los filamentos se segmentan, y en cada uno de los artículos formados se desarrolla un esporo, en medio ó en un extremo. La inoculación de producto de cultivo en conejos determina, según Klebs, un verdadero estado febril. Nada de característico sin embargo; además se deben inyectar cantidades de materias relativamente considerables, y en fin, hay todas las probabilidades para

que los cultivos empleados no sean puros. Ceci, Cuboni y Machiafava anunciaron resultados análogos; estos últimos encontraron bacterias de aspecto semejante á las descritas por Klebs y Tommasi Crudeli, en la sangre de enfermos atacados de fiebre intermitente, al principio de los accesos.

Las investigaciones de Laverán hicieron entrar la cuestión en una vía distinta, que trabajos más recientes han demostrado era la buena. Reconoció en la sangre la presencia constante de organismos inferiores que deben sin embargo, necesariamente distinguirse de las bacterias. Sus caracteres, bien precisos por lo demás, conducen á colocarlos cerca de las gregarinas, de las coccídeas, protozoarios para los cuales se creó el grupo de los *esporozoarios*. Laverán encontró el parásito en la sangre bajo tres formas que, según él, representan otras tantas fases de la evolución de una sola y única especie. Son primero elementos oblongos, que miden de 8 μ á 9 μ, á menudo en forma de medialuna, que recuerda la fase de *cuerpos falciformes,* tan frecuente en los esporozoarios (fig. 137); Laverán les designa con el nombre de *cuerpos n.° 1;* son comúnmente inmóviles ó dotados solamente de un movimiento lento. Los *cuerpos n.° 2* son pequeñas esferas transparentas, de 7 μ de longitud por término medio, en cuyo interior se encuentran granulaciones pigmentarias á menudo dispuestas en círculo (fig. 138). En la periferia de estos elementos se producen filamentos radiales muy finos, transparentes, animados de movimientos rápidos; están comúnmente en número de tres ó cuatro por corpúsculo y alcanzan una longitud igual á tres ó cuatro veces el diámetro de un glóbulo rojo. Estos filamentos, que están dispuestos regularmente en derredor de la masa central (B) ó en un solo lado (B'), tienen su extremo abultado como un pequeño botón. Pueden desprenderse y moverse libremente en la sangre. Estas formaciones corresponden bastante bien á la fase de *pseudofilaria* descrita en varias gregarinas. Finalmente, los *cuerpos n.° 3* (fig. 138) son masas protoplásmicas, de formas irregulares, tienen de 8 μ á 10 μ de máxima longitud, presentan en su interior granulaciones pigmentarias análogas á las que se ven en la forma precedente, pero dispuestas sin orden. No le fué posible á Laverán referir estos tres estados unos á otros. Según lo que se conoce del desarrollo de otros organismos que parecen análogos, parece que el primero de estos estados representados por los cuerpos n.° 1, da origen á los cuerpos n.° 2. La tercera fase no es más que una especie de residuo; el desarrollo debe continuarse por los filamentos móviles, que deben referirse probablemente á la fase de *pseudofilaria* de la evolución de las gregarinas.

Richard, y Marchiafava y Celli obtuvieron resultados en un todo análogos á los anunciados por Laverán. Estos últimos observadores estudiaron y describieron con detalles una forma, que debe corresponder al primer período del cuerpo n.° 2 de Laverán. Son células desnudas, que presentan movimientos amibiformes, que encontraron en la sangre, libres en el líquido ó contenidos en los glóbulos rojos (fig. 140). Se les aplicó la designación impropia de *plasmodios,* que sirve para designar, una forma de evolución especial á los hongos inferiores; el nombre de *cuerpos amibiformes* es verdaderamente preferible.

La inoculación á individuos sanos, de sangre de enfermos, determinó varias veces accesos febriles intermitentes. Marchiafava hizo constar, en la sangre de individuos sometidos al experimento, la presencia de estos cuerpos amibiformes.

Especies cromógenas

BACILLUS SYNCYANUS Ehrenberg.—La coloración azul de la leche es frecuente. Como se propaga por contagio y aparece de un modo epidémico en los establos, durante mucho tiempo se atribuyó á circunstancias climatéricas ó á vicios de la alimentación de las vacas lecheras.

Ehrenberg dió como causa el desarrollo en la leche de una bacteria que denominó *vibrio syncyanus;* más tarde la volvió á encontrar Fuchs y la llamó *vibrio cyanogenus;* la designación de Ehrenberg, que es la más antigua, es la que debe conservarse. Después numerosos observadores se ocuparon de este fenó-

meno interesante; á Neulsen y á Hüppe se deben principalmente detalles preciosos respecto á la morfología y biología de la especie que la causa.

Según Reiset, la coloración aparece muy aprisa sobre la leche ordeñada y puesta en barreños. Se forman en la superficie anchas manchas azules; á medida que la crema sube, la coloración aumenta, esta capa superior es la que principalmente se colorea. La crema puede ser muy picada ó estar atravesada de venas azules, ó formar una membrana enteramente azul. La manteca que se obtiene de ella es de color verdoso y tiene un olor butírico fuerte y desagradable.

Los elementos del *bacillus syncyanus* de la leche son palitos lentamente móviles, cuya longitud varía de 2 μ á 4 μ, por un espesor de 0'5 μ; los extremos son redondeados (fig. 141). Cuando se forman pequeñas zoogleas mucosas, se puede reconocer una aureola hialina, especie de cápsula de jalea. La formación de esporos se observa fácilmente á la temperatura ordinaria. Los esporos son ovoideos, algo más gruesos que los palitos, que se hinchan en el punto en que aquellos se producen. Esto sucede comúnmente en un extremo, el palito toma entonces una forma de masa; otras veces es en el centro y entonces se vuelve fusiforme (fig. 141, 3). En los cultivos sobre medios líquidos, se producen á menudo bizarras formas de involución. La figura 141, 4, representa algunos de estos aspectos curiosos, elementos abultados en forma de matraz, listados, sinuosos, que Nuelsen observó en la *solución de Cohn,* á la cual añadía un poco de nitrato de potasa; Hüppe obtuvo otras semejantes en las soluciones de tartrato de amoníaco.

Los cultivos se obtienen fácilmente en los medios ordinarios. La producción de pigmento parece depender, al menos en ciertos límites, de los alimentos que la especie tiene á su disposición; no se forman en circunstancias especiales.

Sobre placas de gelatina se notan, en dos días, pequeñas colonias blanquecinas, redondeadas, granulosas, que se ostentan en la superficie en pequeñas gotitas mucosas. La jalea toma un tinte gris azul; no se licua.

En picadura en un tubo de gelatina, se forma en el canal un delgado cultivo blanquecino, y en la superficie, un pequeño disco blanco; la jalea se colorea de azul verdoso que se pule con el tiempo. En estría, se desarrollan, á lo largo del surco, pequeñas colonias blancas, en derredor de las cuales la jalea toma un tinte verdoso que puede pasar al gris azul. En estos cultivos sobre gelatina, los elementos tomados en el centro son mucho menores que los de los bordes; los primeros pueden medir de 1 μ á 1'4 μ, los otros tienen de 2'3 μ á 3'5 μ; la anchura es casi igual, de 0'4 μ á 0'5 μ.

El cultivo sobre gelosa da una capa gris; la parte superior del medio se tiñe de pardo.

Sobre patata, á lo largo de las estrías de inoculación, se produce una faja ó una serie de manchas amarillentas; la substancia del tubérculo se colorea profundamente de gris azul.

En la leche, esta bacteria no determina ni coagulación, ni formación de ácido, pero con la edad se apercibe en ella una débil reacción alcalina. La coloración azulada aparece primero en la superficie, por manchas, luego se extiende á toda la capa superficial. Cuando la leche se ha esterilizado, el tinte azul no se comunica al líquido, que es simplemente un poco grisáceo en su parte superior. En la leche ordinaria, por el contrario, toda la masa toma rápidamente un hermoso azul de cielo. El hecho se debe á la acidez de este último líquido, causada por el desarrollo simultáneo de otras bacterias, en particular el *bacillus lacticus;* se puede provocar añadiendo cierta cantidad de ácido láctico.

Hüppe recomienda, como medio de cultivo, las soluciones minerales cuya base es el tartrato de amoníaco. Cuando se siembra uno de estos líquidos, se produce muy aprisa, en toda la masa, un enturbiamiento filamentoso difuso. Luego en la superficie se forma una delgada película blanca y el líquido toma un tinte azulado. Aparece entonces bajo el velo una coloración verde, que invade todo el líquido en catorce días; la membrana se vuelve gris verde; se disgrega por su faz interna y sus restos van á constituir en el fondo del vaso un depósito blanco sucio. El matiz verde

del líquido se vuelve más tarde amarillo; la reacción es enteramente alcalina. El verde puede pasar á azul por oxidación ó por adición de un poco de ácido láctico.

En las soluciones simples de azúcar, de peptonas ó de glicerina no se nota la coloración. Esta aparece desde que se añade tartrato de amoníaco. Esta propiedad de segregar pigmento no parece disminuir por los cultivos sucesivos, como sucede en muchas otras especies cromógenas. Permanece así pronunciada después de gran número de generaciones y en los cultivos muy antiguos. El óptimum de temperatura para la formación de materia colorante es de 15° á 18°; ya se retarda á 25° y no se verifica á 37°.

El pigmento todavía no se ha podido obtener en estado puro. Parece ligeramente soluble en el agua acidulada, insoluble en el agua, el alcohol y el éter. Se disuelve también un poco en la glicerina. Se descompone muy aprisa, las soluciones palidecen rápidamente á la luz, con alguna mayor lentitud en la obscuridad. Tratado por los ácidos orgánicos ó los ácidos minerales diluídos, la solución no cambia de color; por el amoníaco se vuelve violeta; por la potasa y la sosa, de un rojo rosado; el color azul se regenera por los ácidos. Cuando se le trata por la potasa y se le abandona durante algún tiempo, de doce á veinticuatro horas, de rojo rosado pasa á rojo de ladrillo, ofreciendo una fluorescencia poco marcada; el color ya no se vuelve azul por los ácidos, sino que amarillea y se decolora poco á poco. En el espectroscopio, la solución azul da una faja de absorción ancha en el amarillo, sobre la línea D de Frauenhofer. Estas reacciones ya fueron en parte señaladas por Braconnot.

Esta bacteria parece inofensiva para el hombre y los animales. Hüppe crió muchos animales con alimentos á los que mezcló fuertes proporciones de cultivo puro, sin observar ningún desorden. Las inyecciones intravenosas en fuertes dosis, nada determinaron.

Para impedir la pululación de la bacteria en la leche y oponerse á su extensión, Reiset recomienda lavar cuidadosamente los vasos con agua hirviente. Según él, la leche contaminada podría servir para la fabricación de manteca añadiéndole previamente 0gr'50 de ácido acético por litro.

Bacillus cæruleus Smith.—Smith atribuye este nombre á una bacteria, que segrega un pigmento azul, que aisló del agua de un río.

Los palitos miden de 2 μ á 2'5 μ de largo, por 0'5 μ de ancho, y están con mucha frecuencia unidos en largas cadenas.

La gelatina de los cultivos se licua en una pequeña extensión; las partes que se desarrollan en el interior de la jalea son blanquecinas, y la porción superficial se colorea de azul.

Sobre patata se forma, á la temperatura ordinaria, una capa de un hermoso azul obscuro, que con el tiempo se vuelve azul negro.

La materia colorante sólo se produce al aire. Está encerrada en células y no se disuelve ni en el agua, ni en el alcohol, ni en los ácidos.

Esta especie no parece tener ninguna acción patógena.

Bacillus violaceus Schröter.—Es una bacteria bastante común en el agua, se la puede aislar del agua de pozos, de cisterna y de ribera. Su presencia, en todos los casos, parece coincidir con una gran proporción de materias orgánicas. Esta es, según todas las probabilidades, la especie que Schröter había descrito con el nombre de *micrococcus violaceus* encontrada en los pedazos de patata expuestos al aire, lo cual indicaría que puede igualmente encontrarse en suspensión en la atmósfera. Es también la que Bujwid obtuvo del agua de fusión del pedrisco. Debe ser más común en el agua que no se imagina; á veces es difícil de reconocerla en las placas, y á menudo los cultivos sobre gelatina no producen la materia colorante característica.

Consisten en cortos palitos, con extremos redondeados, que miden de 2 μ á 3 μ de largo por 0'45 μ de ancho. Son inmóviles y quizás lentamente móviles en los líquidos. Se forman en los cultivos viejos, esporos redondeados ó elípticos, de igual anchura que los palitos.

En cultivo sobre placas, las colonias se desarrollan rápidamente, pudiendo alcanzar su máximo en tres días. Son pequeñas manchas hialinas, de bordes sinuosos, con superficie ondulada, cuyo centro que sobresale es

opalino, amarillento. La parte central, se vacía rápidamente y la licuación se verifica en muy poco tiempo. Sobre el líquido flota una piel espesa, muy viscosa y coherente, que puede quitarse en masa; se colorea á menudo de violeta después de bastante tiempo, totalmente ó solo en parte por zonas concéntricas. A veces permanece incolora; nada más distingue á estas colonias que se funden en un líquido turbio-blanquecino.

Inoculada en picadura en un tubo de gelatina, esta especie licua muy aprisa el medio. El líquido se enturbia; se forma en la superficie una película blanquecina, que se adhiere á las paredes. Al cabo de cierto tiempo, varias semanas, este velo puede presentar una delgada faja violeta. En el fondo del tubo se deposita un denso sedimento blanquecino. Los cultivos desarrollan con frecuencia un fuerte olor de ácido butírico.

Sobre gelosa el desarrollo es más especial; en dos ó tres días aparece á lo largo de la estría una manchita blanca, que creciendo da una película espesa, lisa ó con pliegues. Este cultivo toma rápidamente un hermoso color violeta negro. El mismo olor butírico se apercibe; falta á veces sin que se pueda explicar la razón.

Sobre patatas, se forma un cultivo viscoso, pero denso, que se pulimenta y llega á cubrir toda la superficie del pedazo. Las únicas partes que están en contacto inmediato con la materia de siembra se vuelven de color violado.

En el caldo el desarrollo se hace como en la gelatina licuada.

La particularidad más interesante de esta especie es sin duda la producción de pigmento. La materia colorante no se produce por decirlo así en los líquidos, ó sólo en proporciones enteramente insignificantes é inmediatamente á la superficie. Es muy abundante en los primeros cultivos sobre gelosa, en donde no se forma sino en contacto del aire; si se vierte en la superficie del medio sembrado una pequeña capa de aceite, el cultivo es muy lento y permanece blanco. Las capas inferiores de una colonia densa son mucho más claras que las superficiales. El pigmento no parece impregnar las células, sino mejor la substancia gelatinosa que las reune en zoogleas; esta última es principalmente la que aparece coloreada. Esta materia colorante es insoluble en el agua y muy soluble en el alcohol absoluto en un licor de un hermoso tinte violeta obscuro, que toma el color de una solución de violeta de anilina cuando la proporción de cultivo es bastante fuerte. En solución, el amoníaco la hace pasar al azul luego al verde; se produce en poco tiempo una decoloración total; por neutralización con el ácido acético, reaparece un ligero tinte violeta. La potasa da color verde, luego amarillo anaranjado; el color no se regenera más por neutralización. El ácido acético no cambia el matiz, ni aún después de un largo contacto. El ácido nítrico hace variar hasta el verde, luego hasta el amarillo verdoso.

Esta propiedad de segregar pigmento, disminuye y aún llega á desaparecer casi completamente después de cierto número de generaciones. Los cultivos son entonces menos fuertes y se colorean en una pequeña porción de su extensión. Semejantes cultivos, por un paso sobre patata, recuperan, en parte al menos, su potencia cromógena; las nuevas colonias que de ellos proceden por siembra sobre gelosa, son mucho más fuertes y coloreados.

Bacillus janthinus Zopf.—Esta bacteria violácea debe seguramente distinguirse de la precedente; es sin duda la que Zopf describió con el nombre de *bacterium janthinum* y considera como no licuante de la gelatina. La encontró sobre pedazos de vejiga de cerdo, que flotaba en un agua estancada.

Forma en cultivo sobre placas, colonias casi idénticas á las del *bacilo tífico*. La misma forma, la misma transparencia, el mismo aspecto azul irisado. Sin embargo, subsiste en la parte central un resto de la colonia profunda que se apercibe como una mancha más obscura. Las colonias de los primeros cultivos pueden no colorearse ó teñirse de violeta obscuro en la parte central; no licua la gelatina por ser demasiado corto el tiempo que dura semejante cultivo. Después de varias generaciones, las colonias obtenidas presentan bien los mismos caracteres, pero la licuación se produce cerca del cuarto ó quinto día

y la gelatina toma un ligero tinte azul pizarreño.

En estría sobre gelatina, se obtiene una faja blanca opaca, con bordes distintos, que nunca crece mucho. El matiz violeta suele aparecer muy tarde y mucho más todavía la licuación, que se produce algunas veces un mes después de la siembra y sólo progresa con lentitud. La gelatina licuada permanece siempre límpida; la colonia violácea cae al fondo guardando su color y allí forma una masa pesada y viscosa.

Los cultivos sobre gelosa son menos considerables que los de la especie precedente y nunca se colorean de un modo tan intenso. Los hechos sobre patata son idénticos.

Estos cultivos encierran palitos de 1'8 μ á 2 μ de largo, por 0'6 μ de ancho, con extremos redondeados, aislados ó unidos por pares. Tienen un movimiento bastante vivo, pero no subsisten grandes desalojes; casi puede considerarse como una rápida trepidación.

La materia colorante es muy soluble en el alcohol absoluto, dando un hermoso licor violeta, más claro que el obtenido con la especie precedente. Las reacciones de las dos soluciones, con los ácidos y los álcalis, son idénticas. El pigmento del *bacillus janthinus* parece mucho menos estable que el del *bacillus violaceus*; su solución alcohólica se decolora completamente en pocos días á la luz.

Bacillus chlorinus Engelmann.—Engelmann describió, sin detalles suficientes, bajo el nombre de *bacterium chlorinum*, una especie en grandes palitos móviles, que él encontró en el agua en que se podrían plantas. La coloración verdosa de las células le pareció debida á la clorófila; era sin embargo más pálida que la de los granos clorofilianos del mismo grosor. Estos palitos son sensibles á la acción de la luz; en un vaso que sólo tenga iluminado uno de sus lados se acumulan en esta parte.

Se debe referir á esta especie una bacteria que forma en la superficie de las trufas una secreción mucosa bastante espesa, de consistencia granulosa, friable, coloreada de verde claro, un poco amarillento. Esta zooglea encierra bacilos gruesos y cortos, que miden 2 μ de largo por por 1 μ de ancho, con extremos redondeados. Son muy móviles, sin presentar, no obstante, movimientos extensos.

En cultivo sobre placas, forman en el interior de la jalea pequeñas colonias redondas, de un color verde amarillo, que se desarrollan poco y licuan muy aprisa la gelatina, sin extenderse.

En picadura en un tubo, licuan la gelatina en el punto en que se deposita un sedimento blanquecino.

Sobre gelosa, se obtiene, en estría, un ancho cultivo amarillo un poco verdoso, espeso, de consistencia butirosa.

El caldo sembrado verdea muy aprisa y aun puede volverse verde de manzana. El líquido se pone claro poco á poco por la separación de un depósito blanco, matizado de verde.

La materia colorante es soluble en el alcohol absoluto, en el cual da un líquido verde amarillento y mejor verde de vejiga claro.

Bacillus viridis Van Tieghem.—Van Tieghem, que desgraciadamente no dió sino muy pocos detalles respecto á estas bacterias verdes interesantísimas, lo encontró en un pequeño depósito formado en la concavidad, llena de agua, del sombrerillo de un polípero.

Son pequeños palitos de un color verde puro, estrangulados en el centro, completamente inmóviles. En el agua se vuelven amarillentos; aparece en su interior un núcleo brillante, muy refringente, esférico ó ligeramente oval, que es un verdadero esporo. Lo restante del protoplasma se decolora completamente. El esporo queda en libertad por la gelificación.

Bacillus virens Van Tieghem.—Él lo encontró en el agua entre las espirogiras, luego en las aguas estancadas.

Son filamentos estrechos de un color verde puro que tira á amarillo, comúnmente inmóviles, pero dotados á veces de lentos movimientos. Los artículos que se forman por su segmentación son bastante largos, y sus dimensiones son análogas á las del *bacillus anthracis*. Expuestos durante algunos días á la obscuridad, se produce, en cada uno de ellos, un esporo oval, muy refringente, incoloro, al nivel del cual el artículo está á veces ligeramente hinchado; al mismo tiempo se observa

una decoloración completa. Puestos en libertad, los esporos germinan en el agua, dando un delgado filamento, primero incoloro, que luego se vuelve verde con la luz y alcanza las dimensiones del filamento primitivo.

Ningún carácter de cultivo se ha dado para estas dos especies, que todavía no han sido encontradas por otros observadores. La materia colorante verde no ha sido estudiada; hay muchos que sin ninguna razón positiva la consideran como de substancia clorofiliana.

Bacillus fluorescens liquefaciens Flügge. Es una especie muy esparcida en la naturaleza, que forma verdaderamente parte de las bacterias antiguamente comprendidas bajo la denominación de *bacterium termo*. Es abundante en todas las putrefacciones; es muy común en el agua y capas superiores del suelo.

Son cortos palitos con extremos redondeados, que miden por término medio 1'5 μ de longitud y 0'4 μ de anchura, aislados ó más á menudo reunidos por pares móviles. La longitud puede crecer en los cultivos sobre medios sólidos y alcanzar cerca de 3'2 μ.

En cultivo sobre placas, dan en dos ó tres días, pequeñas colonias circulares grises, que se rodean rápidamente de una zona anular, muy regular, de licuación. Al cuarto ó quinto día la colonia está bien desarrollada; en el centro de la masa licuada, que mide de 4 á 5 milímetros de diámetro, se encuentran los restos de la colonia profunda, bajo la forma de pequeñas masas blanquecinas, filamentosas, iguales, dispuestas en anillo en derredor del centro. La jalea del alrededor se tiñe de verde claro. Esta colonia puede aumentar mucho y alcanzar grandes dimensiones; los bordes parecen entonces cortados á pico en la gelatina y la cúpula está llena hasta la mitad de un líquido poco turbio, en donde nadan copos blancos.

La gelatina, inoculada en picadura, se licua rápidamente. Se forma en la superficie, desde el primer día, una pequeña cápsula de licuación y un enturbiamiento blanquecino en el canal. La licuación progresa y alcanza al cabo de algún tiempo, el fondo del tubo. El líquido se colorea de verde en su parte superior y permanece mucho tiempo turbio; se encuentra en el fondo un espeso sedimento blanquecino; el tinte verde del líquido desapareció ó es reemplazado por una coloración pardusca.

Sobre gelosa, se forma una colonia mucosa, gris amarillenta, viscosa, que puede volverse muy espesa; la jalea se colorea á menudo de verde en su parte superior.

Sobre patata se obtiene una capa amarilla sucia, brillante, poca espesa.

El caldo se enturbia desde las dos horas; no se forma velo en la superficie, sino un depósito bastante espeso en el fondo del vaso. El líquido se vuelve dicroico; amarillo por transmisión y de un hermoso verde claro por reflexión. El líquido permanece turbio durante mucho tiempo. Cuando se aclara, en los cultivos muy viejos, la fluorescencia verde disminuye; el caldo es algo más pardusco.

Los cultivos desarrollan un olor fecaloide.

La materia pigmentaria se disuelve en el líquido; si el caldo se filtra en porcelana y se esteriliza absolutamente se colorea con más fuerza que antes. El caldo coloreado se vuelve mucho más verde por la adición de potasa ó de amoníaco. Débiles cantidades de ácido destruyen el color, que se regenera entonces por la neutralización del amoníaco. La ebullición hace palidecer el matiz verde.

Bacillus fluorescens putidus.—Esta bacteria fué observada en las mismas circunstancias que la precedente, á la cual acompaña con frecuencia; algunos caracteres son comunes á las dos especies; la última se distingue principalmente porque no licua la gelatina sobre la cual crece.

Los palitos tienen una longitud de 2 μ á 2'2 μ y una anchura de 0'45 μ; son móviles, pero nunca presentan grandes movimientos.

En cultivo sobre placas, las colonias aparecen como pequeños discos transparentes un poco amarillentos. Las que llegan á la superficie de la jalea toman en poco tiempo un gran desarrollo. Dan en pocos días delgadas películas hialinas, con bordes sinuosos, con superficie accidentada, que se asemeja un poco á las colonias de *bacilo tífico*, pero más planas y mucho más anchas. Además la jalea ambiente se tiñe de verde en una gran anchura y la placa despide un fuerte olor de orina.

En estría sobre gelatina, se obtiene un cultivo incoloro, casi transparente, más espeso que el del *bacilo tífico;* se forma una faja mediana con bordes lobulados, que recuerda con su aspecto la fronde de algunos helechos, los *polypodium,* cuyos pliegues se continúan en la colonia. La jalea ambiente se tiñe de verde en una gran parte de su extensión, la coloración es á veces pardusca.

Sobre gelosa, se obtiene una capa mucosa parda, pastosa mejor que viscosa. El medio también se colorea de verde.

Sobre patata, el cultivo se asemeja bastante al principio al del *bacilo tífico;* es como un barniz delgado, incoloro, algo glutinante. Se vuelve rosado ó pardusco, brillante, como barnizado y produce á menudo burbujas de gas que la levantan en ciertos puntos.

El caldo sembrado se enturbia desde el primer día á 20°; en tres ó cuatro días se forma en él un velo incompleto, delgado, que se desgarra en grandes girones; existe en el fondo del vaso un depósito blanquecino muy abundante. El líquido presente también una fluorescencia verdosa, pero mucho menos pronunciada que la producida por la especie precedente.

Todos los cultivos, pero principalmente los hechos sobre patata y en caldo, desarrollan un olor, á menudo muy fuerte, que recuerda el de la orina podrida. Sin embargo, los cultivos sobre gelatina y sobre gelosa, pueden ser casi inodoros.

Bacillus luteus Flügge.—Flügge dió este nombre á una especie del aire que á menudo contamina las placas.

Son palitos de 2'8 μ de largo por 1'5 μ de ancho, inmóviles, aislados ó á menudo reunidos en pares. Macé observó en las células la formación de esporos ovoideos, de 1'8 μ de largo y de igual anchura que los palitos, que se hinchan un poco para contenerlos. Lo más común es que estén situados en el centro del palito, á veces más cercanos al uno que al otro extremo.

Las colonias de los cultivos sobre placas, son discos bastante grandes, de color amarillo de oro, que no licua la gelatina.

La gelatina de los cultivos jamás se licua. En estría, se produce un cultivo bastante ancho, membranoso, plegado, coloreado de un hermoso amarillo de oro.

Sobre gelosa el desarrollo es mucho más abundante, principalmente á una temperatura de 30° próximamente. Se forma una capa amarilla que puede alcanzar un gran espesor y recubrir una gran parte de la superficie libre del medio. Los bordes son perfectos; la superficie es verrugosa.

La materia colorante es muy soluble en el alcohol absoluto, en el cual da un licor amarillo de oro pálido. Bajo la influencia de los álcalis tira á color pardo amarillo, volviendo á su primer color por neutralización; los ácidos no tienen acción sobre ella. Se produce mejor en estufa á 30° y se destruye en parte en los viejos cultivos que palidecen.

Bacillus flavus.—Macé encontró en varias aguas de bebida una bacteria amarilla que se distingue fácilmente de la precedente por el aspecto de sus cultivos y sobre todo por la licuación de la gelatina, que ella ocasiona con bastante rapidez.

Los palitos, que son inmóviles, miden de 1'8 μ ó 2 μ de largo por 0'45 μ de ancho.

En cultivos sobre placas, las colonias bien desarrolladas son discos irregulares lobulados, amarillo parduscos con reflejos verdosos, situados en el fondo de un embudo de licuación bastante profundo. Estas colonias son muy viscosas; pueden levantarse en masa.

En picadura, la gelatina es bastante viva licuada en una gran parte de su altura. El líquido es absolutamente claro; se cubre de una piel espesa, filamentosa, de un hermoso color amarillo de oro, y deja depositar un sedimento más ligero y de color más bajo.

Sobre gelosa, el cultivo es bastante espeso, mucoso, un poco fluido. Sobre patatas, resulta una membrana bastante espesa de color amarillo de oro.

Los cultivos desarrollan un débil olor insípido.

Bacillus synxanthus Ehrenberg.—Esta especie la considera Ehrenberg como la causa de la coloración amarilla de leche cocida, que se observa con bastante frecuencia en ciertas regiones. Fué estudiada luego por Schröter.

Son cortos palitos delgados, dotados de una viva movilidad. Se cultivan muy bien en la

leche cocida, que tiñen rápidamente de amarillo de oro. La caseína se precipita, luego se disuelve; la leche se vuelve muy alcalina.

La materia colorante es insoluble en el alcohol y el éter. Según Schröter, es soluble en el agua. El líquido de cultivo filtrado es amarillo de limón con un ligero tinte verde. Los álcalis no hacen variar el color; los ácidos, hasta en pequeñas proporciones, lo destruyen.

BACILLUS BRUNNEUS Schröter.—Schröter dió este nombre á una bacteria, que producía una materia colorante parda en una infusión podrida de maíz.

Flügge relaciona con ella, bajo el nombre de *bacillus fuscus*, una bacteria que sólo describió de una manera muy incompleta. El principal carácter que él señala, es la presencia en derredor de las colonias de los cultivos sobre placas de una aureola parda. Macé encontró con frecuencia semejantes colonias en los cultivos de aguas de diversas procedencias; siempre estaban formadas por *cladothrix*, como el pudo asegurarse por numerosos cultivos.

BACILLUS RUBER Frank.—Esta especie, muy poco conocida, fué encontrada sobre arroz cocido expuesta al aire.

Los palitos tienen de 6 μ á 8 μ de largo y apenas 1 μ de ancho; están aislados ó reunidos por pares ó de cuatro en cuatro y muy móviles.

Producen un pigmento rojo de ladrillo.

BACILLUS ERYTHROSPORUS Cohn.—Es una bacteria del aire, que es en él muy frecuente según algunos observadores.

Fué encontrada por Cohn y Miflet en caldo en donde había barbotado aire.

Son pequeños bacilos con extremos redondeados móviles. Dan á menudo largos filamentos que en un momento dado se segmentan en artículos, produciendo cada uno un esporo. Estos esporos son ovales elípticos, á veces algo encorvados, muy brillantes y colorados de rojo sucio.

Cultivada en el caldo esta especie, forma en su superficie pequeñas escamas libres, no reunidas por un velo completo, primero blanquecinas, se colorean en el centro de rojo pardo, fenómeno debido á la aparición de esporos en las células. El cultivo desarrolla un olor espermático intenso.

En cultivo sobre placas, da colonias blanquecinas, profundamente lobuladas, plegadas, que vistas al microscopio, tienen un centro pardo rodeado de una zona periférica menos opaca amarilla verdosa; la jalea que le rodea toma un tinte verdoso. La gelatina no se licua.

En un tubo de gelatina, en picadura, se desarrolla en el canal y principalmente en la superficie un cultivo blanquecino; la jalea se colorea de verde ó de amarillo pardo sin licuarse.

Sobre patatas se obtiene una capa poco extensa, primero rojiza luego parda.

No se le conoce ninguna acción fisiológica interesante. Se le encontró después en líquidos de putrefacción de substancias animales y vegetales.

BACILLUS MELANOSPORUS Eidam.—Es también una especie del aire que fué encontrada por Eidam sobre patatas cocidas abandonadas al aire. En ellas forma una fina película rizada de color pardo sucio, luego pardo pizarreño y por último pardo negro. El tinte negro penetra, aunque palideciendo, á gran profundidad en el substratum. El ácido clorhídrico, el ácido acético, el amoníaco, una solución de potasa, no tienen ninguna acción sobre el color; ni el agua ni el alcohol pueden disolverlo. Según Eidam, la coloración se debe á corpúsculos negros, amorfos, que se encuentran esparcidos entre las bacterias, en el medio nutritivo.

Especies fermentos ó de acción indiferente

BACILLUS ACETI Kützing.—Los líquidos alcohólicos expuestos al aire dan con mucha facilidad vinagre. El hecho es conocido desde la más remota antigüedad. Pasteur fué quien probó con toda claridad que la oxidación del alcohol y su transformación en ácido acético, en estas condiciones, se deben al desarrollo en el líquido de un sér organizado y que está en relación íntima con su vida, de tal modo que la *fermentación* disminuye y desaparece con ella.

Este *fermento acético* es una bacteria que

sólo se desarrolla en presencia de oxígeno; es una especie verdaderamente aerobia. Su crecimiento en los líquidos, en donde se la observa naturalmente y en donde determina el proceso químico que le es especial, es característico; allí forma velos superficiales á menudo densos, viscosos, conocidos con el nombre de *madres del vinagre*.

Esta curiosa propiedad, que se utiliza para la obtención del vinagre, no se debe á una sola especie, sino que por el contrario son muchas las que la tienen en grados diversos y que pueden servir para los mismos usos. Su distinción apenas se ha bosquejado y reclama nuevos estudios.

El *fermento acético* de Pasteur se forma de palitos cortos y gruesos, que miden 3 μ al menos de largo y 1'5 μ de ancho, asociados en gran número en largos rosarios sinuosos. Desarrollándose en la superficie líquidos alcohólicos, naturales y artificiales, producen en ella un velo uniforme aterciopelado, cuya aparición es muy rápida; en veinticuatro horas puede revestirse de una membrana transparente y muy fina una extensión de más de un metro cuadrado.

Duclaux describió otra que forma un velo seco, fino, que no se pliega, pero que se reviste de ondulaciones cruzadas de aristas vivas, lo cual recuerda el aspecto de la superficie de un panal de miel.

Macé observó en una serie de investigaciones sobre la madre del vinagre en vinajeras, una misma forma constantemente, lo cual no parece distinguirse de la de Pasteur. De ella obtuvo cultivos puros en medios líquidos y también en los medios sólidos ordinarios. Estos cultivos reprodujeron, por siembra en líquidos alcohólicos, madres idénticas en su aspecto á los primeros y una fermentación acética normal y regular.

Cuando está bien desarrollada la *madre* de esta bacteria, es una piel espesa, blanquecina ó ligeramente rosácea que jamás está plegada, que alcanza fácilmente dos ó tres milímetros de espesor, que es viscosa al tacto y presenta una consistencia bastante firme, casi cartilaginosa. Encierra sumergidos en una substancia fundamental incolora ó débilmente granulosa, numerosos palitos de 3'2 μ de largo por 0'6 μ de ancho. Estos elementos están ora aislados y tienen entonces la forma de un huso con extremos redondeados y ligeramente adelgazados, ora reunidos por pares, no tan á menudo en número mayor; las cadenas de cuatro ó cinco artículos son escasas. La longitud de 4 μ parece el máximo; el palito que la alcanza se segmenta muy pronto en otros dos que miden próximamente 2 μ cada uno y que crecen enseguida. El extremo por el cual semejantes pares se apegan es perfectamente cuadrado y más ancho que el extremo libre redondeado. Los palitos son rectos ó ligeramente curvos, tienen un aspecto granuloso y, con fuertes aumentos, dejan ver uno ó varios núcleos esféricos y refringentes. En el velo son inmóviles; libres en los líquidos, tienen un movimiento lento. La forma cambia en los cultivos viejos; en ellos se vuelven más delgados, más curvos, parecen marchitados y á veces constituídos por una serie de hinchamientos ovóideos, que con mucha frecuencia se han considerado como cadenas de *coccus*.

El velo se pone muy amarillo tratado por el yodo. Se colorea sólo en ciertas partes y de un modo difuso, de azul de violeta por el cloroyoduro de zinc, lo cual indica que está constituído por una substancia celulósica. Algunos palitos pueden también teñirse de azul sin que ningún carácter les haga distinguir de los que no se colorean. La jalea que aglutina los palitos es compacta y resistente; no difluye en ningún líquido. Los artículos están dispuestos de un modo muy irregular y jamás presentan, ni aun en las partes más jóvenes, dirección determinada.

Una partícula de uno de estos velos, sembrada en un líquido alcohólico, ó mejor en una solución compuesta de 2 partes de alcohol á 95°, 2 partes de ácido acético cristalizable, 0°'02 de tartrato de amoníaco y 0°'02 de fosfato de sosa, da en poco tiempo un desarrollo apreciable. Se ve en la superficie en tres ó cuatro días á 15°, una delgada película transparente blanda, muy poco adherible á las paredes del vaso y que caen fácilmente al fondo por agitación. Algún tiempo después, aparecen en este velo puntos blancos, que son verdaderos centros de crecimiento en donde la

madre se espesa. Aumentan y dan manchas regulares é irregulares, circulares ú oblongas, unidas entre sí por partes menos espesas y más transparentes. A causa del progreso del crecimiento, el velo se espesa de un modo irregular y toma los caracteres anteriormente expuestos.

En el caldo la vegetación es muy semejante. En él se cultiva bien y da una piel espesa menos aglutinante y más firme que la de los líquidos alcohólicos.

Esta bacteria crece sobre gelatina sin producir en ella ninguna licuación. El cultivo se hace en mucho tiento y necesita para empezar una temperatura de 15° á 20°. Se forma entonces en la superficie de la jalea, á lo largo de la estría por ejemplo, un cultivo ancho y bastante espeso, de un aspecto completamente particular; consiste en un revestimiento membranoso, blanquecino, casi transparente, de superficie accidentada, rodeada de ondulaciones regulares. Esta colonia es bastante dura; rechina un poco bajo el escalpelo, como el cartílago. La jalea nutritiva no sufre al parecer ningún cambio; el cultivo no despide ningún olor.

Sobre gelosa, los caracteres son algo distintos. El cultivo es un poco amarillento, menos resistente, más friable, algo viscoso; la superficie es continua y sólo presenta algunas toscas irregularidades.

Los palitos de estos cultivos sobre medios sólidos son idénticos á los observados en los líquidos; transportados en medios líquidos, producen en ellos velos característicos.

La acción que esta especie ejerce sobre el alcohol es una acción oxidante; determina su transformación en ácido acético. Es tipo de las *fermentaciones por oxidación*. El efecto producido puede no detenerse en este estado intermediario; el ácido acético puede quemarse á su vez cuando falta el alcohol; los residuos son entonces muy simples, ácido carbónico y agua.

El fermento acético está muy esparcido en la naturaleza. Se observa muy fácilmente exponiendo al aire líquidos ligeramente alcohólicos, pobres en materias orgánicas. Duclaux cree que desempeña un gran papel en la diseminación del fermento, una mosca común en todas partes, la *musca cellaris,* que ocasiona muy pronto el olor de vinagre; lleva, según Duclaux, gérmenes de los medios que visita, los cuales pueden desparramar así muy lejos.

Bacillus pasteurianus Hansen.—Hansen describe bajo este nombre una bacteria idéntica en vegetación y acción fisiológica, al *bacillus aceti,* pero cuyo contenido celular se tiñe de azul por el yodo, reacción que demuestra la presencia de materia amilácea en su interior. Este carácter es muy poco importante para fundar en él un corte específico.

Se le encuentra principalmente en las cervezas ligeras, pobres en alcohol y ricas en materias extractivas; nunca, por el contrario, en las cervezas muy alcoholizadas y en el vino, en el cual se desarrolla el anterior.

Bacillus lácticus Pasteur.—Pasteur demostró que la transformación del azúcar en ácido láctico, la *fermentación láctica* que se puede denominar normal, se debía al desarrollo de una bacteria especial, en el líquido que fermenta, cuya bacteria aisló en cultivos puros y cuyos caracteres precisó. Esta especie es muy común en la leche, á la cual contamina en el momento de ser expuesta al aire y en la cual se desarrolla muy bien á expensas de lactasa. Acidifica poco á poco el líquido ligeramente alcalino ó de reacción anfotera en el momento de su salida de la teta, y puede, si las circunstancias de temperatura son favorables, producir una cantidad de ácido láctico tal, que la leche se coagula desde que se calienta, y aun espontáneamente á la temperatura ordinaria; entonces es cuando se dice que se *tuerce*. El fenómeno se debe á la precipitación de la caseína que bajo la influencia del ácido se vuelve poco á poco insoluble.

Hüppe observó el desarrollo de este bacilo en los medios sólidos.

Los elementos son cortos palitos inmóviles que miden por término medio 1'7 μ, pero cuya longitud puede variar entre 1 μ y 2'8 μ; la anchura es más fija, de 0'6 μ próximamente. Están aislados ó reunidos en pares ó en cadenas de corto número de artículos la mayor parte de las veces. Dan fácilmente esporos en las soluciones azucaradas y también, aunque difícilmente, en la leche; son éstos

pequeñas esferas regulares, brillantes, situadas en el extremo de un palito. El desarrollo sólo se verifica en presencia del oxígeno.

Una solución azucarada, sembrada y mantenida cerca de 30°, se enturbia en dos horas; se forma en pocos días al fondo del vaso un depósito pardo algo viscoso. El líquido se vuelve ácido. Cuando la cantidad de ácido producido alcanza cierta cifra, la fermentación disminuye ó se detiene y el medio se hace impropio para la vegetación de la bacteria. Añadiendo previamente al líquido carbonato de cal, que neutralice al ácido á medida que aparece, se puede prolongar la acción. Se forma entonces lactato de cal y se desprende ácido carbónico.

La leche, puesta en cultivo á 30°, se coagula en quince ó veinticuatro horas, se forma una masa gelatinosa, homogénea, en la cual aparecen algunas fisuras. Aparecen pocas burbujas de ácido carbónico en la masa. El coágulo se contrae; un suero claro llena las hendiduras y se separa poco á poco del cuajo blanco de la caseína. En la superficie se reune la materia grasa intacta. La caseína no se modifica; esta bacteria no tiene ninguna acción peptonizante.

En cultivo sobre placa, esta especie da en cuarentiocho horas, pequeñas colonias de un color blanco pardo de porcelana, que se ostentan en la superficie tomando bordes sinuosos transparentes, mientras que el centro permanece opaco y se vuelve algo amarillento. La gelatina no se licua.

Sobre gelatina, en picadura, se forman en el canal pequeñas esferas y en la superficie un cultivo pardo brillante. En estría las colonias son pequeñas y circulares, aisladas al principio y luego confluyen y producen una faja blanquecina sinuosa.

La propiedad de coagular la leche no es especial al *bacillus lácticus*; muchas otras especies la tienen en el mismo grado. Y aun hay algunos que llegan á ella por un progreso idéntico: formación de ácido láctico á expensas del azúcar de la leche; un ejemplo de ellos es el *micrococcus de la mammitis contagiosa de la vaca*. Hay otras más abundantes que provocan el mismo fenómeno, pero por un medio muy distinto; éstas segregan, como demostró Duclaux, un fermento soluble análogo en un todo al cuajar del estómago de un pequeño mamífero que coagula la gelatina pero no la modifica. Si se disuelve enseguida, se debe á una diastasa muy diferente. Vignal reconoció esta propiedad en muchas bacterias que encontró en la boca ó el intestino.

BACILLUS BUTYRICUS Pasteur.—Es una de las bacterias á las que se debe la *fermentación butírica* que sufren tan á menudo las substancias hidrocarbonadas. Varias especies, confundidas todavía hasta ahora, pueden producir esta reacción; la designación específica debe más bien considerarse como un tipo que estudios ulteriores hacen reconocer como complejo, en donde ya, según los casos, se notan diferencias importantes en la esporulación, en las relaciones del oxígeno con los productos de su acción sobre los medios de cultivo.

El *vibrión butírico* de Pasteur es ciertamente una de las formas más importantes y que están más esparcidas. Es la especie anerobia tipo que ocasiona la fermentación butírica de las soluciones de lactato de cal y de la leche que sufrió previamente la acción del *bacillus lacticus*.

Es muy difícil de distinguirlo, por ahora, del *bacillus amylobocter* de Trécul y Van Tieghem, este agente de la disolución de la celulosa y de su permentación ontírica, tan común en todas las maceraciones vegetales. Sólo aparece como el *vibrión butírico*, cuando las demás especies aerobias, desarrolladas en primer lugar, han consumido totalmente ó al menos en la mayor parte del oxígeno del líquido.

Los datos que actualmente se tienen no permiten todavía separar estos séres tan vecinos por su aspecto y modo de desarrollarse. Su carácter de anerobios exclusivos hace muy difícil su cultivo y casi imposible el aislarle; á esto debe atribuirse la incertidumbre que reina respecto á este punto y que evidentemente disiparán los perfeccionamientos de la técnica.

Los elementos son palitos cilíndricos con extremos redondeados, que miden de 3 μ á 5 μ de largo y de 0'6 μ á 0'8 μ de ancho, rectos ó ligeramente curvos. Están á menudo aislados

ó dispuestos en pares de tres en tres (figura 142, 1, 2, 4), forman en los medios muy líquidos cadenas bastante largas y algunas veces largos filamentos indistintamente articulados. Estos bacilos aislados ó unidos en cadenas, están animados de un rápido movimiento de oscilación; los filamentos se mueven con lentitud. El contacto de residuos de oxígeno disminuye al momento su motilidad y la hace desaparecer en pocos segundos.

La formación de los esporos se observa fácilmente en los cultivos. El artículo que va á esporular se hincha. El ensanchamiento se hace en la parte central; entonces es común que interese todo el palito que toma la forma de huso ó de tonelillo, cuya mayor anchura alcanza á veces 2 μ: tal es la forma *clostridium* de Trécul (fig. 142, 1). El hinchamiento puede verificarse en un extremo, en cuyo caso el palito toma la forma de maza, de renacuajo, de badajo de campana; este es el *urocephalum* de Trécul (fig. 142, 3,5); en este caso suele suceder que crece antes de hincharse y alcanza de 6 μ á 8 μ. En el punto ensanchado aparece el esporo como una mancha clara, oval, que crece un poco y toma contornos sombríos. Cuando está bien formado es un cuerpo ovoideo á veces oblongo, de contornos sombríos, con membrana espesa que tiene de 1 μ á 1'5 μ de ancho, por una longitud que es á menudo de 2 μ (fig. 143, 7).

En el momento de la formación de los esporos, el protoplasma de los palitos sufre importantes modificaciones químicas: aparece en su interior materia amilácea que se tiñe de azul por el yodo y cuya aparición y desaparición pueden seguirse paso á paso por medio de este reactivo. El palito que va á hincharse para producir un esporo, se colorea de azul por manchas irregulares primero, y luego todo entero. En el punto en que la dilatación se forma después del tratamiento por el reactivo, se apercibe una mancha que permaneció incolora; allí es donde se forma el esporo. A medida que el esporo se desarrolla, el almidón desaparece regularmente del palito, empleado sin duda en su constitución. Cuando el esporo está maduro, el yodo ya no colorea al palito, ó sólo le colorea muy poco.

La germinación del esporo fué bien estudiada y descrita por Prazmowski. En uno de los polos del esporo ovoideo la membrana se reabsorbe; se forma un orificio por el cual sale un pequeño prolongamiento cilíndrico que se alarga y da un tierno palito, que se segmenta casi al instante (fig. 143, 8, 9). La membrana del esporo puede permanecer mucho tiempo colgada de la corta cadena de elementos producidos, sin marchitarse. El eje mayor de los tiernos palitos coincide con el del esporo y por consiguiente con el de la célula madre.

Estos esporos gozan de una resistencia á los agentes de destrucción mucho mayor que la de los palitos. Pueden, entre otros, sufrir impunemente el contacto del aire que mata rápidamente las células vegetativas. Hasta quizás, según Duclaux, este contacto sea necesario á su germinación futura. Pero sólo empiezan á desarrollarse en un medio completamente privado de oxígeno; la menor huella de aire impide la germinación. La resistencia al calor no es muy considerable; una ebullición de cinco minutos mata todos los esporos de un medio.

Los caracteres de los cultivos son muy poco conocidos. Pasteur recomienda los caldos y las soluciones de lactato de cal. En la leche, según Hüppe, se produce una coagulación de la caseína que sólo se disuelve con mucha lentitud y en débiles proporciones. Liborius pudo cultivar esta especie en tubos de gelosa, mezclando esporos á la jalea todavía fundida. El desarrollo se hace en las capas inferiores donde aparece un enturbiamiento obscuro; se desprenden gases que hienden la masa; los cultivos huelen á ácido butírico.

Algunos azúcares, la glicerina, los lactatos alcalinos sufren, bajo la influencia del *bacillus butyricus,* la fermentación butírica típica. El producto principal es ácido butírico; también se desprende hidrógeno y ácido carbónico en proporciones muy variables. El primero de estos gases puede faltar totalmente.

La celulosa es atacada; primero la disuelve una diastasa segregada por la bacteria, luego el producto soluble, granuloso, dextrina ó glucosa sufre la fermentación butírica. Pero las diferentes variedades de celulosa no son atacadas del mismo modo, algunas resisten

completamente. La celulosa cuticularizada, suberizada, lignificada ó incrustada de substancias minerales, permanece inatacada. La de las plantas acuáticas resiste igualmente. La bacteria disuelve, por el contrario, fácilmente la celulosa de los tejidos blandos parenquimatosos, la de los tejidos embrionarios. Las membranas gelificadas pueden sufrir su acción; hace fermentar la jalea del *leuconostoc mesenteroides*. La práctica de *enriado*, que aisla las fibras del lino y del cáñamo para hacerlas textiles, se basa enteramente en esta transformación de la celulosa. Al *bacillus butyricus* se debe probablemente referir en gran parte la digestión de la celulosa, pues que, en efecto, se le encuentra con mucha abundancia en la panza de los rumiantes y en el buche de las aves granívoras, en donde actúa sobre la celulosa de la envoltura de los granos.

El almidón en granos no se modifica. Haciendo macerar en el agua pedazos de patata, la celulosa de las membranas se disuelve, el almidón que contiene las células permanece inalterado. Esta es la base de un procedimiento práctico para la obtención de la fécula de la patata.

Las materias albuminóideas pueden también sufrir la fermentación butírica; los caldos, las jaleas peptonizadas desarrollan el olor butírico en los cultivos.

Las bacterias de la fermentación butírica están muy esparcidas en la naturaleza; se encuentran en abundancia en el aire y en el agua, siempre prestas á manifestar su acción desde que coinciden las condiciones convenientes: alimentos de cierta composición y falta de oxígeno. Van Tieghem pudo encontrar palitos con esporos fáciles de reconocer en los cortes de los tejidos silicificados de plantas del período carbonífero. Las bacterias desempeñaron seguramente un gran papel en la formación de las capas de hulla.

No son solamente anerobias las bacterias que pueden provocar la fermentación butírica; varias especies aerobias le ocasionan igualmente, aunque quizás menos bien. La fórmula de la reacción es, sin duda, diferente en este caso, en el que debe intervenir el oxígeno. Además, la presencia de ácido butírico entre los productos de la vida de estas últimas, no es constante; puede suceder que sólo se observe durante cierto tiempo, ó en unos cultivos y no en otros, sin que se pueda adivinar la razón ó acusar la composición del medio. Por esto los primeros cultivos del *bacillus violaceus* despiden un olor butírico muy fuerte, que puede desaparecer ó ser muy débil en los siguientes.

Hüppe aisló, de leche imperfectamente esterilizada, y en donde no se había desarrollado el *bacillus lacticus*, una bacteria que le coagulaba sin que aumentase reacción ácida, antes al contrario, una débilmente alcalina, á la cual considera como un bacilo de fermentación butírica. Dicha bacteria da, en efecto, ácido butírico á expensas de los lactatos ó de las soluciones de ciertos azúcares, la maltosa por ejemplo. Cultivada en la leche, esta especie coagula lentamente la caseína, el coágulo es enseguida corroído y disuelto; sólo desaparece después de un mes ó más; el líquido es un poco alcalino, desprende amoníaco y tiene un sabor amargo. La gelatina se licua rápidamente. La vegetación se hace perfectamente en presencia de oxígeno; por esto no debe pensarse en identificar esta especie con el *bacillus butyricus* de Pasteur, anerobio verdadero. Por lo demás, los caracteres dados no bastan para clasificarla con certeza.

Bacillus caucasicus Kern.—Los habitantes del Alto Cáucaso designan, con el nombre de *képhyr* ó *kiaphyr*, una bebida acidulada, ligeramente alcohólica, que preparan sometiendo la leche á la acción de un fermento especial conocido con el nombre de *granos de képhyr*.

Según Kern, estos *granos de képhyr* son zoógleas de una especie de bacteria en palitos, para lo cual propuso, por la razón que luego expondremos, el nombre de *dispora caucasica*, que debe convertirse en *bacillus caucasicus*.

Son pequeñas masas de un color blanco amarillento, compactas, clásicas, cuando son recientes. Se dejan cortar fácilmente con la navaja de afeitar, mostrando una consistencia análoga á la del cartílago tierno. Secas se vuelven duras, más quebradizas, de un color amarillo sucio, algo transparentes, semejantes á pequeñas bolitas de miga de pan endureci-

do. Su volumen es variable; las hay del tamaño de una cabeza de alfiler y del tamaño de una gran nuez. La superficie es irregular, abollada. Sumergidas en un líquido, se hinchan un poco y se vuelven más blandas y más blancas.

En la masa de las bacterias retenidas por materia mucilaginosa, se encuentran células de levaduras, aisladas, reunidas en pares ó más en cortas cadenas. Estas células son de dos clases: unas elípticas, miden de 3'2 μ á 9'5 μ de eje mayor; otras de 3'2 μ á 6'4 μ de diámetro.

Las bacterias forman la mayor parte de los *granos de képhyr*. Ellas son las que producen la masa mucosa elástica que reune el conjunto. Estas bacterias son cortos palitos cilíndricos que miden de 3'2 μ á 8 μ de largo por 0'8 μ de ancho; están empastadas en una masa de jalea sobre la cual el cloroyoduro de zinc no tiene acción alguna y que debe probablemente referirse al mucílago. En la zooglea los palitos son inmóviles; los que se aislan en un líquido tienen movimientos muy rápidos; Kern les describe además un cirro vibrátil, coloreable por el extracto de palo de Campeche. Pueden producirse largos filamentos de 10 μ y de mayor longitud. En los filamentos ó los artículos aislados, pueden producirse esporos esféricos de 1 μ de diámetro. En los últimos se forman uno en cada extremo; estos palitos tienen entonces el aspecto de un balancín. Es posible que se opere una tabicación difícil de ver, ó que el observador citado tomase por esporos la retracción del protoplasma en los dos polos, tan frecuente en muchas especies. En todo caso, de este carácter procede el nombre de *dispora caucasica*. Aun admitiendo la realidad de estas aserciones, nada autorizaría la creación de un género distinto para estos bacilos.

Esta bacteria se cultiva muy bien en las soluciones azucaradas y, según Krannkals, en el caldo y la gelatina.

Algunos observadores contradijeron los datos de Kern. Los *granos de képhyr* contienen, al parecer, además de las levaduras, varias especies de bacterias, principalmente los *bacillus lacticus, bacillus subtilis* y *bacillus butyricus*. Para llegar á una solución satisfactoria precisaron nuevos estudios, pues ninguna de estas especies parece capaz de producir un mucílago tan resistente y zoogleas tan curiosas.

La leche sufre modificaciones considerables bajo la influencia de este fermento, las cuales se deben á las acciones simultáneas ó sucesivas de los organismos contenidos en los granos.

El *képhyr* se prepara del modo siguiente: Una pequeña cantidad de estos granos se mezcla, en odres, con leche fresca de vaca, de cabra ó de oveja; se agita cuidadosamente y se deja en un sitio fresco. El líquido se prepara tanto más aprisa cuanto mayor es la proporción de los granos. Generalmente, el *képhyr* ya puede usarse á las doce ó veinticuatro horas; se le recoge en vasijas apropiadas y se le encierra en botellas bien tapadas y atadas con bramante. Los granos pueden servir para hacer fermentar leche nueva. Se les puede desecar y conservar mucho tiempo, un año y más, sin que pierdan sus propiedades; parece, sin embargo, en este caso, que las células de levaduras disminuyen mucho.

El *képhyr* reciente, bien preparado, es un líquido transparente, algo viscoso, sin copos de caseína en suspensión, de sabor acidulado agradable. Cuando la fermentación se prolonga, se vuelve espumoso muy ácido.

Los fenómenos pasan del modo siguiente: La leche se vuelve rápidamente ácida á causa del desarrollo abundante del *bacillus lacticus*. La caseína, sin embargo, no se precipita; se disuelve á medida que se modifica por la caseasa que producen las demás bacterias contenidas en los granos de *képhyr*, el *bacillus caucasicus* entre otros, si existe realmente. Estos últimos segregan además *invertina*, que invierte el azúcar de leche y le hace apto para sufrir la acción de la levadura, que es probablemente el *saccharomyces cerevisiæ*.

Todos estos cambios contribuyen á dar al líquido sus propiedades especiales, que hacen de él á la vez una bebida agradable y un alimento reparador, y aun á veces un excelente medicamento. El ácido láctico le comunica su sabor acidulado. La materia albuminoidea de la leche, la caseína solubilizada por las diastasas de las bacterias, se vuelve muy asimi-

lable. La misma levadura, haciendo fermentar el azúcar, produce ácido carbónico que embota el *képhyr* y aumenta el sabor ácido del ácido láctico; da á veces pequeñas cantidades de alcohol, cuya acción se ha de investigar.

Cuando la fermentación se mantiene mucho tiempo, el *bacillus butyricus* puede desarrollarse y comunicar entonces al líquido un olor de queso, á veces algo pútrido.

Bacillus butylicus Fitz.—Fitz lo obtuvo de un modo constante sembrando un caldo glicerinado con restos de excremento de vaca.

Son palitos anchos y gruesos, con extremos redondeados, que miden de 5 μ á 6 μ de largo y 2 μ de ancho por término medio. Son inmóviles en los líquidos muy oreados, si bien que en ellos nunca forman velos; en medio del líquido, cuando el oxígeno es ya consumido, presentan vivos movimientos. Los esporos se producen muy fácilmente en los cultivos; ya los hay al cabo de dos ó tres días; son ovoideos y tienen en general la misma anchura que el palito; á menudo, sin embargo, aquél se hincha previamente en forma de huevo y entonces es mayor. En el momento en que va á formarse el esporo, aparece materia amilácea soluble en el protoplasma; la célula se tiñe de azul por el yodo. Los esporos no resisten la ebullición sino unos cuantos minutos; soportan durante seis horas una temperatura de 95° y mueren cuando se exponen durante once horas á 80°.

Es un agente de fermentación, muy enérgico del azúcar, la glicerina y la mannita. Produce una diastasa que invierte el azúcar de caña; no altera el azúcar de leche. El almidón no sufre ninguna transformación.

Fitz lo cultivó en líquidos formados de tres partes de una substancia ya enunciada, y una parte de extracto de carne por ciento de agua.

Con el azúcar, el líquido es ácido; contiene alcohol butílico, alcohol butírico y un poco de ácido láctico.

Para la mannita, se obtienen los mismos productos y un poco de alcohol etílico.

Con glicerina, se forma principalmente alcohol butírico y un poco de alcohol ordinario.

Esta bacteria vive muy bien en las soluciones de lactatos y tartratos alcalinos, pero no determina entonces ninguna fermentación.

Ningún detalle se tiene respecto á su cultivo sobre medios sólidos.

Bacillus Fitzianus Zopf.—Fitz lo aisló de una infusión de heno, á la que había adicionado glicerina, pequeñas proporciones de sales minerales y carbonato de cal, y á la cual sometió á una ebullición de cinco minutos. Metiéndola en estufa á 40°, desde el día siguiente ya se forma un velo en la superficie; el líquido entra en fermentación dos días después.

Las bacterias observadas son palitos móviles que Fitz considera como pertenecientes al *bacillus subtilis,* pero del cual se distinguen seguramente por su acción fisiológica. Producen grandes proporciones de alcohol etílico á expensas de la glicerina y probablemente de los azúcares.

Los palitos producen esporos ovoideos que les igualan en longitud.

Sobre placas, la especie forma en la gelatina colonias amarillentas con el centro más obscuro. Las de la superficie son hialinas y se asemejan á una gotita de gelatina.

Bacillus actinobacter Duclaux.—Es una bacteria muy esparcida, que se desarrolla en los medios de cultivo abandonados al aire. Prospera principalmente en la leche, en la cual da finos palitos inmóviles, de 2 á 3 μ de largo aislados ó reunidos por pares. La particularidad más interesante es la presencia en derredor de cada uno de ellos de una especie de cápsula gelatinosa, ovoidea ó redondeada de 5 á 6 μ de anchura. Una misma cápsula puede contener dos palitos reunidos por los extremos. Jamás se observan esporos; en los viejos cultivos los artículos pueden ser más cortos. Cuando ha invadido enteramente la leche, se vuelve gelatinoso y tiene una gran viscosidad.

En el caldo, se forman copos blancos, constituídos por cadenitas de 8 á 10 μ, compuestas de artículos más cortos que los observados en la leche. Jamás se produce cápsula.

En las soluciones de glicerina, la cápsula reaparece, pero menos fuerte que en la leche.

En las soluciones azucaradas, los artículos son cortos y dan un velo viscoso en la superficie del líquido; no presentan cápsula.

El almidón cocido se recubre de una película rojiza poco consistente.

Esta especie puede vivir resguardada del aire. Los cultivos perecen entre 60 y 65°; es muy probable que entonces no se formen esporos.

La leche, lo mismo que las soluciones azucaradas y glicerinadas, pero no el alcohol, son el asiento de una fermentación activa; se desprende ácido carbónico é hidrógeno, y encima, con la leche solamente, pequeñas cantidades de hidrógeno sulfurado. Se produce alcohol etílico y un poco de ácido acético. En una solución de lactato de cal, sólo se obtiene ácido acético, pero no alcohol.

BACILLUS TENUIS Duclaux.—Duclaux describió bajo el nombre común de *tyrothrix* toda una serie de bacterias, que encontró en la putrefacción ó la fermentación de las materias albuminoideas, en particular de la caseína de la leche. Estas formas entran evidentemente todas, como podrá el lector convencerse en el género *bacillus*, tal como lo hemos descrito aquí. Estas especies son sobre todo notables por las acciones químicas que provocan y por la gran resistencia al calor que presentan los esporos de algunas de ellas. La pululación de estos séres en los quesos es la causa de su maduración, y determina á menudo en ellos profundas alteraciones estudiadas con cuidado por el sabio autor citado, que dedujo de sus investigaciones, consecuencias prácticas muy importantes para la industria lechera.

El *bacillus tenuis* se presenta bajo la forma de palitos delgados de 0'6 μ de ancho por 3 μ al menos de largo, que pueden prolongarse en larguísimos filamentos rectos ó arrollados, sobre todo cuando la temperatura es baja y el oxígeno poco abundante (fig. 143, 4). Los palitos tienen un movimiento rápido, los filamentos un movimiento lento, onduloso; los largos filamentos ó las largas cadenas de artículos son inmóviles.

El caldo sembrado muestra pequeños copos blanquecinos al cabo de algunas horas.

En la leche se forma una película plegada poco coherente. La división en artículos se hace en ella rápidamente y cada uno de los artículos produce un esporo ovoideo, algo abultado. En el velo aparecen muy pronto esporos diseminados. La leche se coagula primero, bajo la acción de una débil cantidad de cuajo segregado por la bacteria; el coágulo es más blando que el producido por el cuajo ordinario. La caseína elaborada disuelve poco á poco á la caseína precipitada; el líquido se vuelve opalino. En él se encuentra leucina, tirosina, valerianato de amoníaco muy característico de esta especie, y un poco de carbonato amónico.

No se observa ningún desarrollo en el ácido carbónico, pero empieza cuando hay en él vestigios de oxígeno; es tanto más exuberante cuanto mayor es la abundancia de oxígeno.

Esta bacteria en la leche, no toca el azúcar. No ataca ni la glicerina, ni el lactato de cal, ni la glucosa; vive con gran dificultad en el suero y la orina.

Su resistencia al calor es notable. Las células vegetativas no perecen en un líquido neutro, sino entre 90 y 95°; en un medio débilmente alcalino pueden soportar 100°. Los esporos resisten á 115°. La mejor temperatura para los cultivos está entre 25 y 35°.

BACILLUS FILIFORMIS Duclaux.—Son palitos cortos de 0'8 μ de ancho por 2 μ próximamente de largo, aislados ó unidos por pares ó en largas cadenas (fig. 144, 3). Presentan un movimiento lento sin ondulaciones. Se forman esporos en los artículos, la mayor parte de las veces en un extremo. El palito se hincha en el punto en que se produce el esporo y toma la forma de un huso ó de una maza.

La leche inoculada muestra en la superficie, en poco tiempo, una superficie plegada formada de filamentos, de glóbulos de grasa ó de caseína, ó á veces de copos que nadan en el líquido. En él no se nota coágulo ó si acaso es muy ligero; en dos ó tres días la masa se vuelve súbitamente transparente, algo obscura.

Esta especie enturbia el caldo en algunas horas, luego forma en él una película espesa, blanca, aterciopelada, que se eleva sobre las paredes del vaso. Cuando el líquido se ha vuelto espeso, el velo se disloca y cae. En él se producen esporos que constituyen una gran parte del depósito.

Los palitos pueden soportar un calor de 100° en leche fresca ligeramente alcalina. Los esporos mueren hacia 100°; en la leche, pueden producir otros cultivos después de haberles mantenido á 120°.

El *bacillus fililiformis* respeta el azúcar de leche y la glicerina. Se encuentra en el líquido procedente de sus cultivos en la leche, urea, leucina, tirosina, carbonato de amoníaco y una mezcla de valerianato y de acetato amónicos.

Bacillus distortus Duclaux.—En la leche, son palitos granulosos de 0'9 μ de ancho por una longitud cinco ó diez veces mayor. Cuando están aislados tienen movimientos vivos y son algo flexibles; en cadenitas de cuatro ó cinco artículos el movimiento es más lento; son completamente inmóviles cuando en cadenas más largas.

La leche se vuelve poco á poco viscosa; en ella se forma un precipitado de *caséum* que es redisuelto. El líquido, incoloro y fluido, se tiñe de amarillo y toma una consistencia gelatinosa. Los artículos están hinchados, tienen las membranas gelificadas; muchos dan esporos. El líquido contiene las mismas substancias que las encontradas con la especie precedente.

El caldo tiene muy pronto una reacción alcalina; en él se forman fácilmente esporos.

Es esta una especie aerobia. Las células vegetativas resisten á 90-95°; los esporos á 100-115 grados.

Bacillus geniculatus Duclaux.—En el aire y en la leche, se desarrolla en copos formados de filamentos ondulados á menudo bruscamente acodados, entrecruzados unos con otros (fig. 143, 1), que nadan en el líquido y nunca se reunen en la superficie formando velo. La anchura es de 1 μ, los filamentos pueden alcanzar 10 μ; la longitud de los artículos en palitos no se ha señalado. Estos elementos son siempre inmóviles. Producen hileras de esporos.

En el caldo, en seis horas á 25°, ya ha dado copos visibles. En veinticuatro horas, el líquido límpido se llena de largos filamentos flotantes. La producción de esporos es más abundante que en la leche; se forman largas hileras de ellos, que luego son puestos en libertad por la disolución de la membrana y caen al fondo del vaso donde forman un depósito blanquecino. El líquido permanece claro.

La leche en que se desarrolla esta bacteria contiene leucina, tirosina, valerianato y acetato de amoníaco y además una substancia muy amarga.

Las células mueren si se las mantiene algunos minutos á 80°; los esporos soportan 105°, pero mueren á un calor superior.

Bacillus turgidus Duclaux.—Es una especie aerobia, cuyos artículos cortos de 1 μ de ancho y de una longitud doble ó triple, con extremos cuadrados, están rara vez aislados, con más frecuencia reunidos en cadenas á menudo muy móviles.

En la leche, produce un coágulo ligero; el precipitado es disuelto, el líquido se vuelve amarillo transparente. Se forma en la superficie una película resistente, formada de filamentos empastados en la materia albuminoidea. Muchos artículos dan esporos. La reacción del líquido es alcalina; contiene carbonato y butirato amónicos. Este último cuerpo es mucho más abundante durante la fermentación que después; se consume poco á poco. Se encuentra además leucina y tirosina. Desde los primeros días de la fermentación, el líquido desarrolla un olor análogo al de los sitios en que se fabrica el queso.

No modifica al azúcar. Esta bacteria vive penosamente en el almidón y la glicerina, y no se desarrolla en el lactato de cal.

La temperatura más apropósito es de 25 á 30°. Los palitos adultos mueren á 80°, los esporos á 115°.

Bacillus scaber Duclaux.—Son cortos palitos de 1'1 μ á 1'2 μ de anchura y apenas el doble de largos, de aspecto granuloso, unidos con gran frecuencia en largas cadenas (fig. 143, 2). Son móviles cuando son jóvenes, pero con movimientos lentos y pesados; las cadenas largas son casi inmóviles.

Forman sobre los líquidos una película frágil, cuyos girones permanecen adheridos á las paredes del vaso. Este velo ofrece numerosos esporos.

La leche no se coagula, pero toma poco á poco y con gran lentitud el color y el aspecto

de suero; las diastasas, no obstante de que está bien manifiesto que se producen, son muy poco activas. El líquido es alcalino y tiene un olor débil; contiene leucina, tirosina, carbonato y valerianato de amoníaco.

La vegetación se hace mal en la leche y mucho mejor en el caldo ó la gelatina. Esta bacteria necesita alimentos fácilmente asimilables; por esto, en los quesos, no se desarrolla sino en último lugar, cuando sus congéneneres han preparado materias nutritivas. Es verdad que ataca, pero lentamente, el azúcar de leche y el azúcar de caña. Es verdaderamente aerobia, no se multiplica ni en las capas profundas ni en presencia de ácido carbónico.

Las células vegetativas mueren entre 90° y 95°; los esporos entre 105° y 110°.

Bacillus virgula Duclaux.—Sólo se desarrolla difícilmente en la leche ó en las soluciones de albúmina; mejor, pero aun penosamente, en la gelatina y en el caldo.

Son palitos delgados, cilíndricos, de 0'5 μ de ancho y 2 μ próximamente de largo; están aislados ó en rosarios de pequeño número de elementos (fig. 143, 3). Estos artículos son inmóviles y presentan á menudo un extremo hinchado irregularmente, en donde se forma el esporo esférico, de igual longitud que el palito primitivo. La especie es aerobia. El líquido de cultivo contiene carbonato y un poco de butirato de amoníaco.

Bacillus urocephalus Duclaux.—Esta bacteria es muy abundante; debe ser uno de los principales agentes de la putrefacción de las materias animales. Por lo demás, vive á expensas de casi todas las substancias nitrogenadas. Se desarrolla mejor resguardada del aire, como anerobio, pero puede crecer en presencia de oxígeno.

Los elementos (fig. 144, 2) son palitos cilíndricos, de 1 μ de ancho por 3 μ al menos de largo, muy móviles, aislados, en pares ó reunidos en largas cadenas. Muchos se hinchan en un extremo y forman en este punto un esporo esférico.

La leche, en que se ha sembrado esta especie, muestra en la superficie islotes transparentes, gelatinosos, que pueden invadir la masa sin darle no obstante una consistencia gelatinosa. Después de algún tiempo, se obtiene un líquido viscoso, que corona un denso depósito filamentoso, en donde se forman numerosos esporos. Cuando el oxígeno ha desaparecido ó que el cultivo se hace en el ácido carbónico, se produce un desprendimiento gaseoso. Los gases son ácido carbónico é hidrógeno; un poco de este último se convierte en hidrógeno sulfurado. La leche tiene entonces un olor desagradable, que puede ser aliáceo, pútrido, cuando falta completamente el oxígeno. En ella se encuentra leucina, tirosina y valerianato amónico ó amoníacos compuestos.

Las células vegetativas mueren entre 90° y 95°. Los esporos perecen á 100° ó 105° en un líquido neutro, á 95° ó 100° en un líquido ligeramente ácido.

Hay algunas particularidades que relacionan esta bacteria con el *bacilo de la fermentación butírica normal;* el último se distingue, no obstante, por su carácter anerobio exclusivo y porque ataca el lactato de cal y glicerina, donde no vive la especie de Duclaux.

Bacillus claviformis Duclaux.—Es un anerobio puro. Los artículos son pequeños palitos de menos de 1 μ de ancho por una longitud que no llega al doble, aislados ó reunidos por pares, pero sin formar nunca cadenas. Un extremo presenta un abultamiento esférico, muy regular, en donde se forma un esporo redondo, cuyo diámetro es próximamente el doble que el del filamento (fig. 144, 4).

La leche es un medio de cultivo muy apropósito; se coagula y la precipita empezando ya á disolverse después de veinticuatro horas. Se desprende ácido carbónico é hidrógeno, dos volúmenes del primero por un volumen del segundo. Ataca la caseína y la lactosa. El líquido es ligeramente ácido y tiene un débil olor, no desagradable, que recuerda el de la pera ó del membrillo. En él se encuentra alcohol etílico y pequeñas proporciones de alcoholes superiores, leucina, tirosina y acetato de amoníaco. Al principio, cuando el azúcar es muy poco atacado y que sólo ha ejercido su acción sobre la materia albuminoidea, el olor es pútrido.

Bacillus catenula Duclaux.—Se desarro-

lla mejor cuando no hay oxígeno, pero puede, sin embargo, cultivarse también en el aire cuando el medio se ha sembrado con abundancia. En el primer caso, se observan artículos cortos tenues de 0'6 μ de ancho, inmóviles; en el segundo caso los palitos son más espesos, miden 1 μ de ancho por 4 ó 5 μ de largo, se les encuentra aislados y entonces muy móviles ó en cadenas, dotados de movimientos más lentos. Algunos se hinchan en forma de aceituna ó de huso y producen en su centro un esporo voluminoso oval, más ancho que el filamento primitivo (fig. 144, 1).

Bajo su acción, la leche se vuelve primero un poco ácida, la caseína se coagula lentamente en copos que se depositan; luego el precipitado se redisuelve poco á poco. El líquido encierra leucina, tirosina, ácido butírico, libre ó combinado en parte con el amoníaco. La acción se detiene muy pronto á causa de la gran cantidad de ácido producido, que perjudica la vitalidad de la bacteria; se la puede hacer durar más tiempo, añadiendo al líquido creta que neutralice una parte del ácido. La especie no tiene ninguna acción sobre la caseína precipitada ya por el calor ó los ácidos.

Los palitos sin esporos mueren cuando se les calienta hasta 90°; los esporos perecen á 105°.

Se distingue del *bacillus butyricus* por la propiedad que tiene de vivir en presencia de oxígeno y la imposibilidad de vivir á expensas del lactato de cal, ya sea en el aire ya sin aire.

Bacillus vulgaris Hauser.—Hauser creó el género *proteus* para tres especies de bacterias que encontró muy á menudo en putrefacciones de substancias animales. Ninguno de los caracteres que presentan pueden motivar su separación del género *bacillus;* y además uno de ellos, su *proteus Zenkeri*, es completamente distinto de los otros dos. Ya expusimos en otro lugar las razones que motivan esta opinión. La ramificación de las colonias se encuentra en otros *bacillus* en un grado más pronunciado todavía; el desaloje de las ramas depende únicamente del medio y de la temperatura; la emigración de los palitos en la gelatina viscosa se observa en muchas especies móviles. El que podríamos llamar polimorfismo de los elementos, depende directamente de las variaciones del medio, además de que se observa á un mismo grado en otras especies; las formas espirales, principalmente sus *spirulinas,* son filamentos ondulados; los *coccus* son verdaderos esporos. Nada permite separar un género *proteus;* si se trata de clasificar estas formas, principalmente las dos primeras, en la serie de las especies bastante conocidas, se les reconocerá grandes afinidades con el *bacillus Zopfii.*

Bordoni-Ufreduzi refiere á los *proteus* de Hauser una bacteria que aisló de la sangre de un hombre muerto que presentaba síntomas de septicemia. Le atribuye erróneamente el nombre de *proteus hominis capsulatus,* confesando que el único carácter que puede aproximarle á los de Hauser es la producción de palitos ó de filamentos, según las condiciones de los cultivos, cosa que, según sabemos, es muy común en muchos verdaderos bacilos.

Es imposible para todo observador concienzudo separar estas especies del género *bacillus* tal como se comprende actualmente. Las describiremos pues bajo este nombre genérico.

El *bacillus vulgaris* es muy común en las putrefacciones de carne; Escherich lo obtuvo de meconio de recien nacido.

Los palitos son móviles, con movimientos bastante vivos, miden 1'25 μ de longitud y 0'6 μ de anchura, y están aislados ó reunidos en pares. La longitud es, sin embargo, muy variable según las condiciones del medio; al principio de los cultivos se encuentran palitos más largos y algo más gruesos, que tienen 1'25 μ á 3 μ de largo por 0'8 μ de ancho. Estos largos elementos presentan á veces un estrangulamiento central y se muestran distintamente articulados sobre las preparaciones coloreadas. Se obtienen filamentos que alcanzan hasta 80 μ de largo, rectos ó curvos, ondulados en forma de *spirilas* ó rizados como se ha representado en la figura 20, 13. A esta última forma, completamente accidental y jamás constante, se le aplica la denominación de *spirulina.* Los palitos grandes pueden á veces tener cirros vibrátiles bien visibles. Las formas de involución son frecuentes, princi-

palmente en los cultivos adelantados; se encuentran en el trayecto de los artículos ó de los filamentos abultamientos esféricos ú ovoideos, que pueden medir 1'6 μ de diámetro.

Los cultivos sobre placas de gelatina tienen un aspecto muy característico. En veinticuatro horas á 20° aparecen pequeñas colonias redondas, amarillentas, casi transparentes, que se muestran grises y ligeramente granulosas con un mediano aumento. Llegadas á la superficie, dan una pequeña mancha con centro amarillento, opaco y con bordes hialinos. La periferia toma un contorno irregular y emite prolongaciones primero poco numerosas, luego en gran número. Las colonias toman en poco tiempo el aspecto que representa la figura 110. La colonia primitiva forma en el centro una masa opaca, viscosa, rodeada de una zona filamentosa. De la masa central y de la zona periférica parten una serie de prolongaciones de forma bizarra que irradían en la jalea ambiente. Tienen la forma de morcilla más ó menos larga, sinuosos ó tortuosos; á veces parecen sacacorchos de diámetro muy irregular, que están formados por apegarse en rosario, artículos de grandor variable, de forma ovoidea con gran frecuencia. Están constituídos por palitos colocados uno al lado de otro en número más ó menos considerable, según el espesor de la ramificación; los tractos muy finos pueden tener uno solo ó un pequeño número en espesor. Estos prolongamientos, con gran frecuencia fusiformes, sostienen á la colonia por un pedículo bien deslindado. Con frecuencia se separan de él y parecen entonces libres en la gelatina. Cuando la jalea es poco compacta y no encierra más que un 6 por 100 de su volumen de gelatina, y se mantienen las placas á 22°, temperatura á la cual el medio es viscoso, se nota fácilmente que estos prolongamientos moniliformes están animados de movimientos bien evidentes. Se desalojan lentamente en la jalea, pudiendo á esta temperatura adelantar 1 milímetro por minuto. Se alejan bastante de la colonia que los produjo, para que no se pueda reconocer ninguna relación entre ellos. En poco tiempo, toda la superficie de la gelatina se cubre de estas colonias errantes. La licuación se verifica entonces muy aprisa. Los movimientos disminuyen á medida que la temperatura baja; á 10° ya no son apreciables. Con jalea que encierre 10 por 100 de gelatina, no se observa esta emigración de las colonias.

En picadura en la gelatina, á 10 por 100, la licuación es rápida, el líquido es ligeramente turbio y tiene una reacción alcalina; deja depositar un sedimento blanquecino bastante ligero. El cultivo desprende un olor de putrefacción desagradable.

Sobre gelosa, se forma una capa mucosa, gris blanquecina, húmeda, que se extiende por toda la superficie libre. Sobre patata, se producen manchas mucosas de aspecto sucio.

En el caldo, la vegetación es abundante; se producen gases de olor pútrido.

La especie puede vegetar sin aire, pero en general no crece tan bien; la gelatina se licua con más lentitud.

Determina con gran rapidez la descomposición de la carne fresca ó cocida.

La inyección subcutánea de una pequeña cantidad de líquido de cultivo, determina una pequeña inflamación en el punto de inoculación, que puede causar una extensa supuración. Las inyecciones intravenosas ó subcutáneas de grandes dosis, determinan una intoxicación general con síntomas graves, en donde domina disnea, cianosis, calambres musculares, que pueden ocasionar la muerte. Los líquidos de cultivo, filtrados en porcelana, ocasionan los mismos accidentes; es muy probable que los efectos tóxicos se deban á productos solubles, segregados por las bacterias y acumulados en el medio en que viven.

Bacillus mirabilis Hauser.—Se encuentra con el precedente y en las mismas condiciones, pero no con tanta frecuencia como él. Las diferencias que separan estas dos especies son poco importantes.

Los palitos del *bacillus mirabilis* tienen o'6 μ de anchura. Su longitud es variable; excede á veces muy poco á la anchura; los artículos parecen entonces casi redondos; alcanza á menudo de 2 μ á 3 μ. Son móviles y muestran grandes formas de involución, cuyo diámetro puede alcanzar 7 μ.

Las colonias de los cultivos sobre placas se asemejan mucho á las de la especie preceden-

te; el centro es más pardusco, las prolongaciones menos móviles. Muchos de estos últimos son más delgados, torcidos en hélice y recuerdan las formas descritas por Kleps bajo el nombre de *helicomonas*.

En picadura sobre gelatina, se forma en la superficie en cuarentiocho horas un disco pardo brillante. Sin oxígeno crece con más lentitud; la jalea no se licua sino después de mucho tiempo.

Los efectos son los mismos que los que produce el *bacillus vulgaris*.

Bacillus Zenkeri Hauser.—Son palitos bastante móviles que tienen por término medio 0'4 μ de ancho y 1'65 μ de largo.

Sobre placas de gelatina dan pequeñas colonias aplanadas, de un color gris blanquecino. En picadura, el cultivo termina en terraplén; de la periferia parten filamentos hinchados, de trecho en trecho, en pequeños islotes formados de palitos regularmente apegados entre sí, cuya disposición se puede apercibir muy bien haciendo preparaciones por impresión. La gelatina no se licua. Estos cultivos son inodoros.

Los cultivos sobre el caldo tienen un fuerte olor pútrido.

Esta especie es más exigente en oxígeno que las dos primeras; apenas crece en el ácido carbónico.

Los efectos que ocasiona parecen análogos á los precedentes.

Bacillus figurans Crookshank.—Es una especie común en el aire, que contamina con frecuencia los cultivos sobre placas, principalmente cuando la gelatina empieza á secarse. En ella forma pequeños islotes blanquecinos, opalinos, de forma y tamaño muy diversos, liados entre sí por finos prolongamientos rectos ó igualmente encorvados. Los bacilos afectan en estos cultivos una disposición muy regular, que se puede estudiar perfectamente en las preparaciones por impresión.

El cultivo se hace sobre gelatina sin licuarla; en todos sentidos escapan filamentos que recorren la jalea.

La inoculación sobre gelosa, en estría, da un cultivo cuyo aspecto recuerda una pluma. De la línea central, bastante gruesa, parten una serie de tractos filamentosos colocados como las barbas de una pluma.

Bacillus termo Dujardin. — Es evidente que la denominación de *bacterium termo*, tal cual la comprendían los antiguos autores, no se aplicaba á una sola especie bien definida, sino que podía convenir á otras varias que tenían ciertos caracteres parecidos ó idénticos. Según Dujardin, eran palitos cilíndricos, algo hinchados en el centro, que miden á menudo de 2 á 3 μ de longitud y de 0'6 μ á 1'8 μ de anchura. Especie de las más comunes en las putrefacciones animales ó vegetales, es de las primeras que aparecen, si bien que desaparece muy pronto, cediendo su lugar á otras más activas, en el momento en que es intenso el hedor de la putrefacción. Como verdadero aerobio, se esparce primero por toda la especie líquida, luego abandona las partes profundas á medida que consume el oxígeno, y se concentra en la parte superficial donde forma un velo. Los *bacillus fluorescens liquefaciens* y *bacillus fluorescens putidus* formaban parte sin ninguna duda del antiguo tipo de Dujardin; lo mismo sucede á las dos especies estudiadas por Hauser bajo los nombres de *proteus vulgaris* y *proteus mirabilis*. Pero existe otra bacteria, abundante en todas partes, muy común en el agua específicamente distinta de las precedentes, para la cual debe reservarse el nombre de Dujardin, haciéndola entrar en el género *bacillus* con los límites que le hemos asignado. A ella se aplica la descripción siguiente:

Consiste en palitos gruesos que miden por término medio 1'4 μ de longitud por 0'8 μ de anchura. Reunidos por pares, comúnmente sólo se separan por un estrangulamiento central poco pronunciado; puede formar también cadenas de varios artículos. Los movimientos son vivos; Dallinger y Drysdale describieron cirros vibrátiles en una pequeña especie que refieren al *bacterium termo*.

Los cultivos sobre placas son muy característicos. A los dos días consisten en una pequeña colonia blanquecina, cuya periferia se vuelve pardusca, turbia y se rodea de una zona de licuación. En tres ó cuatro días las que llegan á la superficie toman el aspecto que representa la figura 145; consiste en una

mancha circular blanca, algo parda, que alcanza de 2 á 4 milímetros de diámetro, con centro opaco, coposo y rodeada de un líquido ligeramente turbio. En la periferia se observa una orla pálida, completamente transparente, muy sinuosa, á veces lobulada, que asemeja la colonia á una amiba que se haya reunido á un gran cuerpo esférico. Esta orla presenta movimientos lentos á 20°, cuando la gelatina es algo viscosa; examinándole detenidamente, durante mucho tiempo, se apercibe que los lóbulos cambian de forma. Desaparece cuando la licuación marcha rápidamente. Estas colonias pueden alcanzar un centímetro y más de diámetro; forman en la jalea una profunda cúpula llena de un líquido algo turbio. La jalea ambiente toma algunas veces solamente un tinte verdoso que recuerda el del *bacillus fluorescens liquefaciens,* que se distingue fácilmente porque, en las mismas condiciones, sus colonias tienen un centro formado de masas coposas dispuestas una al lado de otra, en anillo, y careciendo de la orla especial.

En picadura, en un tubo de gelatina, se forma en doce horas una pequeña cúpula de licuación llena de un líquido casi claro (figura 81); en dos días la cúpula alcanza las paredes del tubo (fig. 146). Las capas superiores de la jalea toman un tinte verdoso. La gelatina del tubo se licua rápidamente en la mitad de su altura (fig. 82), luego con más lentitud hasta abajo; permanece mucho tiempo turbia y muestra un depósito blanquecino formado de grandes copos densos. Los cultivos sólo desarrollan un olor muy débil.

Sobre gelosa, se observa una capa mucosa, pardusca, poco consistente, casi fluida. El suero sanguíneo se licua. Sobre patata, la inoculación da en ocho días un ancho cultivo grisáceo, viscoso.

El caldo se enturbia primero uniformemente; se cubre de un tenue velo que se rompe fácilmente y da un depósito poco abundante al fondo del vaso. Según Cohn, se forma un velo ligero, verdoso, en la solución mineral que lleva su nombre.

Bacillus subtilis Ehrenberg.—El *bacillus subtilis* es una de las especies más esparcidas; sus esporos abundan comúnmente en el aire, el polvo, el agua y las capas superiores del suelo. Se le encuentra siempre sobre las plantas tiernas ó secas, el heno por ejemplo, de ahí su nombre vulgar de *bacilo del heno* (*haubacillus*). Naturalmente le absorben los herbívoros; los esporos atraviesan el intestino, resistiendo al jugo gástrico que mata á los palitos, y se encuentran en gran número en los excrementos. Evidentemente deben existir varias especies que, viviendo en las mismas condiciones, tienen caracteres muy parecidos y que sólo un estudio muy detenido puede llegar á diferenciarles; esta es probablemente la razón de las divergencias que se notan en las descripciones.

La especie que parece ser el verdadero *bacillus subtilis*, se obtiene haciendo hervir durante un cuarto de hora ó media hora, una maceración de heno neutralizada previamente. Los esporos de esta bacteria resisten bastante tiempo la temperatura de 100° que mata comúnmente los demás mezclados con ellos. Los esporos de los *bacilos de la patata* resisten sin embargo bastante bien; por esto se obtienen á menudo cultivos de estas especies en lugar de *bacillus subtilis*. Se forma después de un día ó dos á 30°, en la superficie de la infusión, un velo característico.

Las células son palitos cilíndricos, con extremos ligeramente redondeados, que miden de 4 á 5'5 μ de largo por 0'7 ó 0'8 de ancho. Ora están aislados, ora reunidos en cadenas más ó menos largas; en la superficie de los líquidos forman, al apegarse unos á otros, densos velos. Los bacilos en suspensión en un líquido presentan movimientos vivos. Los órganos del movimiento son largos cirros, que Koch descubrió en los dos extremos de los palitos coloreándoles por medio de una solución de extracto de palo Campeche (figura 147). Las cadenas son móviles como los palitos aislados, pero tienen un movimiento más lento y más onduloso; los únicos palitos que ocupan los extremos de la cadena están provistos de un cirro en su extremidad libre; cuando la cadena se rompe, los artículos que terminan cada parte ganan su cirro en poco tiempo. La división de los palitos se hace rápidamente y puede observarse con facilidad en un cultivo sobre el porta-objetos. El tiem-

po que necesita para operarse está en función directa de la temperatura; á 21° un palito, resultado de una división, necesita cinco cuartos de hora para partirse á su vez; á 35° le bastan veinte minutos.

Se forman esporos muy aprisa en los palitos; se encuentran muchos en los cultivos después de algunos días. El artículo que va á esporular se vuelve inmóvil y muestra una mancha obscura en su centro, á veces en un punto más cercano de un extremo. Esta mancha crece, se vuelve ovoidea y toma contornos obscuros. Forma un esporo generalmente elíptico, á veces en forma de corto cilindro ó casi regularmente esférico, con membrana espesa y reflejo azulado (fig. 147). Cuando se ha formado el esporo, los palitos pueden volverse de nuevo móviles, luego su membrana se disocia y los esporos quedan en libertad. Caen al fondo del vaso, si el medio es líquido, y necesita para germinar que se les lleve á un nuevo medio. Su longitud es por término medio 1'2 μ y su anchura 0'6 μ algo inferior á la del palito; á menudo están rodeados de un anillo de protoplasma pardusco, residuo del contenido de la célula madre.

La germinación puede hacerse en doce horas á la temperatura ordinaria. Según Büchner, se abrevía haciendo hervir previamente los esporos en el agua durante cinco minutos y dejándoles enfriar lentamente; entonces se ve como empieza á las dos ó tres horas. El esporo palidece un poco, luego la membrana parece hendirse en el sentido de su diámetro menor; en este lugar es donde sale el nuevo palito, al cual permanecen á menudo apegadas las dos valvas de la membrana. La dirección de estas células jóvenes es por consiguiente perpendicular á la de las células madres.

Este *bacillus subtilis* es un verdadero aerobio; no crece absolutamente cuando no hay oxígeno. Cuando se le priva de este gas, las células vegetativas se vuelven inmóviles y mueren en poco tiempo; los esporos resisten pero no pueden germinar sino á condición de disponer de oxígeno. Es muy ávido de este gas; desarrollado en velo en la superficie de un líquido, lo absorbe tan completamente, que es posible cultivar en las capas inferiores del líquido, que ha permanecido claro, verdaderos anerobios.

Los cultivos de esta especie se obtienen muy fácilmente sobre los medios nutritivos ordinarios.

Sobre placas de gelatina, este bacilo dá, en veinticuatro horas, pequeñas colonias redondas, amarillentas. Estos discos, al llegar á la superficie de la jalea, se ostentan en pequeñas manchas transparentes de bordes sinuosos, con centro amarillento. El centro se deprime poco á poco y, cerca del cuarto día, empieza á licuarse. La licuación progresa; al quinto ó sexto, se observa que de la colonia profunda solo queda un hueco bastante pronunciado, que presenta en el centro una masa circular algo amarillenta, y en todo el rededor se ven, tapizando la cavidad, pequeños copos formados de ténues filamentos apelotonados, á veces ondulados. Estas colonias pueden alcanzar cerca de un centímetro de diámetro. Entonces toda la placa se licua muy aprisa; en el líquido algo túrbio nadan numerosos copos semejantes á los de las colonias. Las colonias profundas, que permanecen en las capas inferiores de jalea, licuan sin pasar por la primera fase; entonces se encuentran al fondo de un profundo hoyo, de bordes lisos, que parece hecho con el sacabocados, el líquido producido se evapora en parte.

En picadura sobre gelatina, se forma en la superficie y en el canal un delgado cultivo blanquecino que sólo licua con gran lentitud la jalea. La licuación sólo es apreciable al quinto día.

Se desarrolla sobre gelosa, en una capa blanca, lechosa, que se transforma en una membrana rizada, un poco transparente.

El cultivo sobre patata es muy rápido; en cuarentiocho horas á 37°, se observa una capa espesa, caseosa, de un color blanco algo amarillento.

El caldo se enturbia desde el primer día. Al segundo se ha formado en la superficie un velo delgado, blanco, seco, que se riza al cuarto y da enseguida una membrana bastante espesa, muy plegada, con la superficie superior seca, como polvorosa. Este velo es coherente, se rompe con dificultad y se apega fuertemente á las paredes del vaso. El líquido

subyacente es límpido; existe en el fondo del vaso un ligero depósito blanco, formado casi enteramente de esporos.

Los cultivos no tienen ningún olor.

Esta especie no tiene, al parecer, ninguna acción patógena. Se la puede introducir en dosis considerables en el organismo sin ocasionar accidentes. Nyssokowitsch observó que los esporos, inyectados en las venas, se fijaban en el hígado y el bazo donde se les podía volver á encontrar después de mucho tiempo, algunos meses, en estado de germinar, sin que estos órganos parecieran sufrir con su presencia. Esta inocuidad absoluta es una prueba cierta de que el *bacillus subtilis* es distinto del *bacillus anthracis*. La identidad de las dos especies fué, en efecto, sostenida por Büchrier, que condujo á esta opinión por métodos de experimentación defectuosos y graves errores de observación.

El *bacillus subtilis* no parece actuar en ningún caso como fermento. Vandevelde anunció que privándolo de oxígeno se le podía obligar á producir una fermentación. Sometiendo á un análisis minucioso un medio de composición bien conocida en donde haya vegetado esta bacteria durante tiempo suficiente, notó que la glicerina y el azúcar habían sido consumidos y que se encontraba por el contrario en el líquido ácido láctico, restos de ácidos grasos, ácido carbónico é hidrógeno. Pero estas últimas substancias sólo se encuentran en pequeñas proporciones, procedentes, sin duda alguna, de los fenómenos químicos de la asimilación. Además, la pureza absoluta de los cultivos dista mucho de ser segura.

Se deben referir en gran parte á esta especie los llamados *bacilos* del *Jéquirity,* que se desarrollan en las maceraciones de granos de *Jéquirity,* á los cuales ciertos autores atribuyeron la acción irritante de estas maceraciones, utilizada en la terapéutica ocular. Hoy está ampliamente probado que la substancia activa es un alcaloide que se encuentra en los granos; las bacterias que se observan en el líquido proceden únicamente de gérmenes suministrados por el aire y nada tienen que ver con el efecto producido.

Bacillus mesentericus vulgatus Flügge.—Es una bacteria muy desparramada. Existe con abundancia en el aire y contamina con frecuencia los medios de cultivo que no se han resguardado completamente; es común en la tierra de las capas superiores del suelo, en los excrementos del hombre ó de los animales, fecuente también sobre las plantas, en particular sobre los restos de patatas. Se le obtiene á menudo sobre patatas incompletamente esterilizadas cuya piel se ha conservado. Los esporos que se encuentran en la superficie ó en las capas externas de esta envoltura pueden resistir mucho tiempo á 100°. Entonces se observa en poco tiempo el desarrollo que se hace siempre del mismo modo y que se reconoce fácilmente. El crecimiento empieza por la periferia de la superficie de sección, da una orba grís amarillenta, festoneada, mate; primero lisa, luego rizada, ensortijada, se extiende rápidamente y cubre en pocos días todo el pedazo. Esta película es bastante resistente, muy viscosa; cuando se quita un pedazo con el hilo de platino se estira en largos filamentos. Aparecen con frecuencia en la superficie gotitas transparentes un poco amarillentas y muy viscosas.

Los elementos son palitos cortos y gruesos, cuya longitud varía según el medio de cultivo. Sobre los medios sólidos, tienen por término medio 1'2 μ; sobre los líquidos alcanzan 3 μ. La anchura es constante, de 0'9 μ próximamente. Estos bacilos rara vez están aislados, con mucha frecuencia están reunidos en pares y á veces en gran número de cadenas, aglutinadas por materia viscosa. Están animados de un movimiento de oscilación bastante rápido. Los palitos pueden producir esporos redondos, de igual diámetro que ellos, que se encuentran la mayor parte de las veces en el centro del artículo. Estos esporos, entre otras cualidades, ofrecen una gran resistencia al calor; una embullición prolongada á menudo les respeta.

En cultivo sobre placas, esta especie da en veinticuatro horas pequeñas colonias amarillentas, que se muestran con un aumento mediano, formadas de una parte central más obscura y de un anillo periférico más claro. En dos días la colonia ha crecido, su centro, siempre más oscuro, se ha rodeado de una zona clara en donde empieza la licuación de

la gelatina (fig. 111). De la periferia parten numerosos filamentos radiales, cortos, que dan á los bordes la apariencia ciliada. La licuación progresa, estas particularidades desaparecen, la colonia puede alcanzar un centímetro de diámetro; consiste en una cúpula circular, llena de un líquido pardusco.

En picadura, la gelatina se licua muy pronto. En cuarentiocho horas se puede observar ya una cúpula bien desarrollada. Pero después, la parte superior del tubo es enteramente líquida. El líquido es blanquecino y mantiene en suspensión copos más densos. Al cuarto día, la licuación ha alcanzado el fondo de la picadura.

Sobre gelosa, se obtiene una película gris, á veces algo amarilla, mate, de apariencia de cera; primero es lisa, más tarde se riza. Este cultivo es muy adherente á la jalea de lo cual dificilmente se separa.

Sobre suero se forma una membrana blanca que se pliega también. El medio es rápidamente licuado.

La inoculación sobre patata da una película parduzca, espesa, con bordes festoneados, que invade rápidamente la superficie libre del medio. El cultivo penetra en la substancia del tubérculo; se pueden quitar pequeñas partículas con los filamentos viscosos característicos.

En el caldo, se produce en cuarentiocho horas un ligero enturbiamiento; el líquido se cubre de un velo á veces muy ligero, incompleto, que se parece á fino encage de anchas mallas, ó de una membrana más espesa, plegada, á menudo areolada. La coloración del medio puede oscurecerse y volverse parda.

La leche sufre modificaciones importantes bajo su influencia. La caseina se coagula en poco tiempo, luego se licua parcialmente; la mayor parte permanece intacada. El líquido se separa entonces en tres copas. La capa central es un líquido incoloro ó ligeramente amarillento, muy alcalino, que presenta las reacciones de las peptonas; ni es viscoso ni fluente. La capa superior está formada de nata invadida por los bacilos y que se ha vuelto muy fluente, asi como el depósito inferior, formado por la caseina que no se ha disuelto. Esta bacteria parece por lo tanto ocasionar por sí sola una transformación viscosa expontánea de la leche, que cambía toda la masa en un líquido denso, muy pegajoso, que parece una fuerte solución de goma arábiga.

Las materias amiláceas son enérgicamente atacadas; se produce una diastasa muy activa.

Bacillus mesentericus fuscus Flügge.—Se lo encuentra generalmente con el precedente, ó solo en las mismas condiciones. Se distingue fácilmente de él por los caracteres de sus cultivos y sobretodo por la coloración parduzca de algunos de ellos.

Son pequeños bacilos cortos, de iguales dimensiones que la especie congénere, reunidos comunmente por pares, ó en pequeño número en cortas cadenas. Son muy móviles y dan también esporos esféricos.

En cultivo sobre placas, forman pequeñas colonias amarillentas, granulosas, que licuan muy aprisa la gelatina.

En picadura, una parte de la gelatina se licua en tres ó cuatro días; el líquido túrbio encierra grandes copos de un color blanco súcio.

Sobre gelosa, se obtiene una capa de un color pardo muy claro, de café con leche, primero bastante homogénea y resistente, luego viscosa.

El cultivo sobre patata es más especial. En veinticuatro horas es una piel lisa, amarillenta y muy pronto parda, que se vuelve seca y rizada.

Bacillus megaterium de Bary.—De Bary lo encontró sobre cales cocidas que se habían expuesto al aire; se han vuelto á encontrar después en diversos líquidos de maceración y en el agua entre las algas putrefactas.

Son palitos cilíndricos, con extremos redondeados; que miden 2'5 μ de ancho. En los medios nutritivos nuevos, la longitud puede alcanzar de 10 á 15 μ; son anchos artículos rectos ó ligeramente encorvados, que se multiplican rápidamente por bipartición (figuras 35, I). Tienen movimientos constantes, bastante lentos, y están aislados, reunidos por pares, en pequeño número ó en largas cadenas. En este caso no están pegados en línea recta, exactamente unos después de otros, sino que se tocan algo lateralmente, como los dos artículos del número 1 de la figura 35. Cuando estos palitos tienen cierta edad pare-

cen simples, y sin embargo, si se les trata por un reactivo que les contraiga, el alcohol ó la tintura de yodo por ejemplo, se muestran formados de cuatro ó seis artículos á penas más largos que anchos (fig. 35, 2, 3, 4, 5, 6). En cada uno de estos artículos puede producirse un esporo. En un momento dado aparece en el protoplasma una mancha clara redonda (fig. 35, 5, 6) que crece, se vuelve oval, toma contornos obscuros y se transforma, en algunas horas, en un esporo oval-oblongo, á veces algo cilíndrico, muy refringente, de orilla azulado, casi tan largo como la célula madre pero mucho menos ancho; su anchura no pasa del tercio de la del palito (fig. 35, 5 6). Durante la formación de los esporos, el movimiento de las células disminuye pero jamás cesa completamente. El esporo queda en libertad por la reabsorción de la membrana de la célula madre. Se puede fácilmente seguir su germinación, que se hace en algunas horas, cuando se ha tenido necesidad de desecar durante veinticuatro horas un producto de cultivo que contenía esporos maduros. El esporo pierde su contorno oscuro y toma el aspecto pálido de una célula vegetativa, luego se hincha hasta que ha alcanzado las dimensiones ordinarias de los palitos. A veces parece que la membrana externa del esporo se rompe para dejar salir el nuevo palito; puede permanecer apegada á él durante cierto tiempo (figura 35, 8, 9). Los nuevos palitos crecen y se dividen en poco tiempo.

Esta bacteria se cultiva muy bien en las soluciones azucaradas ó en los caldos. Licua muy aprisa la gelatina y forma un cultivo blanquecino sobre gelosa y sobre patata.

Bacillus ureæ Miquel. — Miquel obtuvo del agua de albañal un bacilo que determina en la orina una modificación en un todo análoga á la del *micrococcus ureæ*, la transformación de la urea en carbonato amónico. Para aislarlo de otras especies que le acompañan, en particular de esta última, siempre presenta en estas condiciones, recomienda calentar el agua de sentina, durante dos horas entre 80° y 90°. El *bacillus ureæ* resiste, los demás mueren. Sembrando entonces orina esterilizada con algunas gotas del líquido calentado, se observa en muy poco tiempo su desarrollo. Consiste en pequeños palitos de menos de 1 μ de anchura, que están con frecuencia unidos en largos filamentos, enturbiando rápidamente el medio. La fermentación de la urea es completa en cuarentiocho horas. El desarrollo se retarda; muchos palitos forman esporos elípticos brillantes, que soportan inpunemente durante varias horas una temperatura de 96°. Es un anerobio facultativo; crece muy bien sin oxígeno libre, pero vive también en el aire. Sólo puede cultivarse en los caldos á los cuales se ha añadido urea.

Una bacteria, quizás idéntica á ella, fué encontrada por Leube en la orina podrida. Los elementos son palitos de 1 μ de ancho y 2 μ de largo, con extremos redondeados, que provocan enérgicamente el desdoblamiento de la urea en carbonato amónico. Los cultivos se obtienen fácilmente sobre gelatina, á la cual nunca licuan. Sobre placas resultan pequeños discos opalinos, que pueden alcanzar un gran diámetro. En picadura, el desarrollo se hace casi exclusivamente en la superficie. En ella se forma una capa blanca bastante espesa, de bordes sinuosos, que pueden mostrar una série de anillos concéntricos; en el canal, sólo al cabo de mucho tiempo se apercibe un delgado cultivo pardusco. Los cultivos desprenden un olor de propilámina.

Estas bacterias son todavía muy poco conocidas, para que sea posible decidirse respecto á ellas. El desdoblamiento de la urea que ellas provocan no puede considerarse como suficientemente característico. Es probable que otras especies, estudiadas bajo este punto de vista, podrían comportarse de un modo idéntico. Leube señala, aunque muy someramente no obstante, otros dos bacilos y una sarcina que ocasionan la misma reacción.

Bacillus sulfhydrogenus Miquel.—Miquel encontró con abundancia en las aguas de albañal, las aguas potables y las pluviales una bacteria que ataca la albúmina insoluble, la destruye lentamente y elimina la mayor parte de su azufre en el estado de ácido sulfhídrico libre. Las células son palitos muy cortos, móviles, anchos á penas de 1 μ; la longitud puede hacerse mayor en las soluciones muy nutritivas. Es una especie que vive perfectamente como anerobia. Cultivada en un medio des-

provisto de azufre, desprende ácido carbónico é hidrógeno; desde que se introduce azufre, aparece el ácido sulfhídrico. Una temperatura de 30°-35° favorece la producción de hidrógeno sulfurado. En cuarentiocho horas se transforma un gramo de azufre en un cultivo de cuatro litros de agua hervida á la que se había adicionado tartrato amónico y un exceso de azufre. La producción de este compuesto sulfurado cesa cuando su cantidad se vuelve tóxica para la bacteria; sacándole por una corriente de ácido carbónico, se puede prolongar la reacción. Cuando el medio es alcalino se produce un sulfuro; sembrando en una solución de urea, esta especie y *micrococcus ureæ*, se obtiene sulfuro amónico. Con el cáutchuc se observa un ligero desprendimiento de hidrógeno sulfurado.

Rosenheim retiró de una orina que contenía, desde su emisión, grandes proporciones de ácido sulfídrico, bacterias de no licuaban la gelatina, que vegetaban lentamente en orina reciente, produciendo el mismo compuesto sulfurado.

Se necesitan nuevos estudios para precisar la naturaleza y la acción química interesante de estas bacterias.

Bacillus phosphorescens Fischer.—La curiosa propiedad que tienen ciertas bacterias de emitir resplandores en la obscuridad, fué señalada hace mucho tiempo sin que se tuviesen, hasta hace poco, detalles bastante precisos respecto á las especies que la presentaban. Investigaciones recientes han dado á conocer varias, que la forma de sus elementos y los caracteres de cultivo permiten distinguir fácilmente.

Fischer dió el nombre de *bacillus phosphorecens* á una hermosísima bacteria luminosa que aisló del agua del mar de las Indias y que se volvió á encontrar, en los mismos paraje, sobre peces ú otros animales marinos muertos, luciendo en la oscuridad.

Esta especie forma palitos muy móviles, aislados ó reunidos por pares ó más en filamentos. Los palitos miden por término medio de 1'15 μ á 1'75 μ de largo y tienen una anchura dos ó tres veces menor. Se colorean muy bien por los métodos ordinarios y jamás muestran esporos en su interior, sino únicamente vacuolas que no toman materia colorante.

En cultivo sobre placas se observa, al cabo de treintiséis horas, pequeños puntos redondos, parduscos, que con un mediano aumento, parecen completamente homogéneos y dotados de un brillo verdoso. Estas colonias aumentan, se vuelven pardas y se hunden en la jalea que licuan rápidamente.

Inoculado en picadura sobre gelatina, este bacilo determinó en tres ó cuatro días una depresión cupuliforme en la superficie de la jalea, al fondo de la cual se encuentra una delgada copa grisácea; el canal ofrece un ligero enturbiamiento. La licuación se hace lentamente. En la superficie del líquido túrbio de los cultivos adelantados, nada una ténue película de color amarillo súcio.

Sobre gelosa se forma un cultivo pardusco que nada presenta de especial, salvo su propiedad de lucir en la oscuridad.

El suero solidificado es un excelente medio de cultivo; la bacteria se desarrolla en él en pocos días en una faja gris, que puede alcanzar un centímetro de ancho.

El cultivo sobre patata es blanco y delgado.

La carne y el pescado son también medios excelentes. En poco tiempo, los pedazos se cubren de una capa delgada, viscosa, que les comunica la propiedad de lucir en la oscuridad.

La inoculación á peces vivos no dió resultados.

En el caldo en veinticuatro horas se observa un ligero enturbiamiento. Se forma hacia el tercer día una fina película en la superficie.

El *bacillus phosphorescens* es una especie aerobia. La mejor temperatura para los cultivos está entre 20° y 30° no progresan á una temperatura inferior á 10°; son al parecer más vigorosos en los medios á los que se ha adicionado una pequeña cantidad de sal. Estos cultivos no desarrollan ningún olor ni desprenden ningún gas. La inoculación, aun en grandes dosis, fué siempre inofensiva á los animales del experimento.

La particularidad más interesante, que aparece en todos los medios, es la de lucir en la obscuridad. La luz es blanca, algo azulada; su intensidad es máxima entre 25° y 30°, á penas

es perceptible á 10°; desaparece cuando se pone el cultivo á 40°.

El mismo observador encontró una especie distinta de bacterias fotógenas sobre peces muertos procedentes del mar del Norte. Son cortos palitos móviles, de 1'3 μ á 2'1 μ de longitud por una anchura que varía entre 0'4 y 0'7 μ. Licuan lentamente la gelatina y su mejor temperatura para vegetar está entre 5° y 10°, lo cual les distingue perfectamente de la especie precedente. La luz emitida es además más azulada.

Finalmente, Forster y Hermés, estudiaron también bacterias luminosas que parece que deben referirse á una tercer especie, que se diferencia principalmente por que no licua la gelatina. Fueron encontradas igualmente sobre peces del mar del Norte y se asemejan mucho en la forma y dimensiones á la última especie descrita por Fischer, pero no licua la gelatina. La luz que emiten es verdosa. Se cultivan y lucen muy bien de 0° á 20° y perecen rápidamente á 37°. Hermés propuso para esta última especie el nombre de *bacterium phosphorescens*. Es muy probable que esta especie sea la que Cohn describió y llamó *micrococcus phosphoreus* en 1878; según esto debiera reservársele el nombre específico de *bacillus phosphoreus Cohn*.

Bacillus liodermos Flügge. — Son cortos palitos muy móviles, comunes en el aire y que contaminan á menudo los medios de cultivo. Licuan rápidamente la gelatina. Sobre patata forman primero un revestimiento transparente, semejante á una delgada capa de solución de goma, que se transforma en el momento de la esporulación, en una membrana espesa, muy plegada, pero que no penetra en el substrato como muchas especies precedentes. La materia gomosa es soluble en el agua.

Bacillus mycoides Flügge. — Se observa con frecuencia en la tierra de los campos ó de los jardines, tomada en la superficie. Las dimensiones y apariencia de los palitos recuerdan el *bacilo del carbunclo,* pero los primeros son perfectamente móviles. Pueden formar largos filamentos en los cuales nacen esporos ovales.

En cultivo sobre placas se desarrolla en pequeñas colonias blanquecinas, muy ramificadas, que parecen un pequeño micelio de moho. La gelatina se licua aprisa.

Por inoculación en picadura en la gelatina, se obtiene en el canal un delgado cultivo blanquecino, de donde parten perpendicularmente ténues filamentos ramificados. La licuación empieza entonces en la superficie y se extiende muy pronto á todo el tubo. El líquido es claro, coronado de una membrana blanquecina y deja depositar grandes copos del mismo matiz.

Sobre gelosa en estría, no se observa casi nada en la superficie; en muy poco tiempo, veinticuatro horas á 35°, toda la jalea es invadida por filamentos sinuosos, que parten de la estría y que le dan el aspecto opaco. A lo largo de la estría sólo se forma un delgadísimo cultivo.

Sobre patata se forma una faja blanquecina, mucosa, limitada á la estría de inoculación.

En el caldo, se producen grandes copos blancos, densos, que caen al fondo del vaso, en donde forman un tosco depósito ligero. El líquido permanece siempre claro.

La introducción de grandes dosis en el organismo no ocasiona accidentes.

Bacillus aerophilus Liborius.—Es también una de las numerosas especies del aire que invaden los cultivos.

Los palitos son delgados, aislados ó reunidos en cierto número en filamentos. Son muy ávidos de oxígeno y sólo se desarrollan en las capas superiores de los medios.

Este bacilo, da en cultivo sobre placas, pequeñas colonias ovales, de color amarillo verdoso. La gelatina se licua rápidamente, antes que haya cambiado el aspecto de las colonias.

En picadura, da un ancho embudo de licuación. El líquido es amarillento súcio, poco túrbio.

Sobre patata se observa una capa amarillenta mate, de apariencia de cera, que se deseca enseguida y se vuelve achagrinada.

Bacillus tumescens Zopf.—Zopf lo obtuvo exponiendo al aire pedazos de zanahorias cocidas. Se forman á menudo, en pocos días, pequeñas zoogleas gelatinosas, discoidales, que alcanzan un centímetro de diámetro, dando enseguida una membrana plegada, viscosa, blanquecina. Esta membrana está for-

mada de cortos palitos que producen esporos redondos.

BACILLUS DYSODES Zopf.—Es una bacteria que ocasiona, según Zopf, una especie de fermentación del pan. El pan se vuelve blando, viscoso; exhala un olor desagradable, análogo al de una mezcla de esencia de menta y de esencia de trementina. Se observan largos palitos y filamentos; los artículos pueden formar esporos elípticos.

Para preservarse de este fermento perjudicial, Zopf recomienda lavar la levadura, que él cree que es la causa del perjuicio, con agua acidulada al $^1/_2$ por 100 de ácido clorhídrico.

BACILLUS POLYMYXA Prazmowski.—Se desarrolla sobre pedazos de remolachas y de nabos cocidos, expuestos al aire. Allí forma grandes masas gelatinosas, de consistencia cortilaginosa, rizados, que se asemejan un poco á las zoogleas del *leuconostoc mesenteroides*.

Estas masas contienen palitos móviles que se asemejan á los del *bacillus butyricus,* que producen esporos de la misma manera que estos últimos, después de haberse hinchado en forma de elípse ó de maza. Estos esporos son elípticos, más pequeños que los palitos. Los elementos que proceden de los cultivos sobre patata se colorean de azul ó de violeta por el yodo.

Se cultiva en los medios líquidos dando á la superficie una espesa membrana caseosas.

Probablemente se le debe atribuír el poder de disolver la celulosa y el almidón y de hacerles fermentar.

BACILLUS LINEOLA Muller.—Esta especie muy antígua dista mucho de estar perfectamente definida. Las descripciones que se han dado no bastan para darle á conocer con certeza. Es según toda probabilidad el *bacterium triloculare* de Ehrenberg, al cual este sábio describió cirros vibrátiles que formaban lo que él llamaba las *trompas*.

Se encuentra en el agua estancada, constituyendo á menudo una película en la superficie.

Las células son grandes palitos cilíndricos, muy móviles, que miden de 3'8 μ á 5'25 μ de largo y hasta 1'5 μ de ancho. El protoplasma muy refringente encierra numerosas granulaciones. Están aislados ó reunidos en pares, rara vez de cuatro en cuatro; jamás se encuentran filamentos largos. Forman zoogleas redondas ó lobuladas, en las cuales se encuentran artículos inmóviles, encerrados en una masa gelatinosa transparente, de donde salen fácilmente para moverse en el líquido.

BACILLUS ULNA Cohn.—Fué observado por Cohn, luego por Prazmowski en el agua podrida, sobre clara de huevo cocida y sobre huevos podridos.

Son grandes palitos de 4 á 10 μ de largo por 1'5 á 2 μ de ancho, reunidos por pares, de cuatro en cuatro ó en grandes cadenas rectas ó sinuosas. Los movimlentos son algo pesados. En los medios favorables forman largos filamentos. Los artículos producen grandes esporos ovóideos, á veces en elipse oblonga, de 2 á 2'8 μ de largo por 1 μ de ancho.

Los cultivos no dan buenos resultados en los medios ricos en albúmina. En los líquidos, dan una película espesa, seca; sobre clara de huevo cocida, da pequeñas zoogleas mucosas cuyo desarrollo no modifica en nada el color ni la consistencia del substrato.

CAPÍTULO XV

BACTERIÁCEAS.—GÉNEROS «SPIRILLUM, LEPTOTHRIX Y CLADOTHRIX»

§ I

Género «Spirillum»

El género *spirillum* fué creado por Ehrenberg, en 1830, para bacterias cuyos elementos describían una espiral de varias vueltas, móvil pero rígida; las especies espirales con cuerpo flexible, ondulante, formaban el género vecino *spirochæte*. Finalmente, otros elementos simplemente encorvados fueron colocados en el género *vibrio*, con bacilos móviles. Dujardín, en 1841, ya había reunido los dos primeros géneros en uno solo, estimando como poco importantes los caracteres que les distinguían. Un estudio más profundo ha hecho referir al mismo tipo los *vibrio* de elementos curvos. La reunión de los tres órdenes de las formas precitadas es tanto más natural, cuanto que una misma especie puede presentar sucesivamente los caracteres considerados como genéricos, según las condiciones en que se encuentra. Algunas formas, las más sencillas, muy á menudo sólo presentan una curvatura poco pronunciada, los elementos sólo describen una pequeña porción de circunferencia; estas son las formas llamadas en *coma* los *bacilos coma*. Con frecuencia no obstante, haciendo intervenir condiciones de medio distintas, se logra obtener artículos más largos, que describen una espiral de numerosas vueltas. Otras especies sólo se conocen bajo esta última forma; la espiral puede ser muy larga, compuesta de muchas vueltas, flojas ó apretadas (fig. 148). La curvatura no es un carácter absolutamente especial de este género. Ya lo hemos señalado en varias bacterias en palitos; el *bacilo de la tuberculosis*, el *bacillus butyricus* tienen á menudo sus artículos algo encorbados. Hay especies que crecen en filamentos que presentan un aspecto todavía más complicado. Porciones de filamentos ondulan, describiendo una hélice irregular, y hasta pueden replegarse en forma de bucle; á esta forma se le denomina *spirulina* (fig. 20. 13). Pero lo que es un carácter que servirá de guía y que permitirá establecer perfectamente la distinción, es la regularidad y la constancia de la forma en las especies de elementos tipicamente encorvados;

variando un poco las condiciones del medio, se obtiene con las otras un regreso al verdadero aspecto, cuando esta curvatura no sea una simple excepción que sólo afecte algunos elementos entre un gran número de otros perfectamente rectos.

Las bacterias del género *spirillum* están bastante esparcidas en la naturaleza. El *espirilo del cólera* está en la primera fila de las especies patógeneas. Se encuentran en abundancia formas saprofitas en las aguas estancadas, en los líquidos en putrefacción, aisladas, en velos más ó menos espesos, ó en copos formados de elementos entrecruzados y reunidos por una substancia mucosa (fig. 24). En las zoogleas compactas, los elementos son inmóviles; cuando se aislan presentan movimientos, ora poco marcados, de oscilación ó de rotación lenta en derredor del eje de la curva, ora muy vivos. En este último caso, consiste en una rotación rápida enderredor del eje, y, al mismo tiempo, en las especies del antiguo género *spirochæta,* repetidas ondulaciones. Estos movimientos se deben á cirros viblátiles, que se encuentran en los extremos de los elementos, aislados ó en haces.

La formación de los esporos se conoce en varias especies (fig. 149). En las formas simples, el artículo produce un esporo, redondo ú ovoideo, igual á él en anchura ó en un diámetro mayor; se hincha entonces en el punto en que se forma. Los *espirilos* largos se segmentan previamente, probablemente siempre, y en cada germinación de los esporos se hace del modo general. En el *spirillum endoparagogicum,* los esporos germinan cuando todavía están contenidos en la célula madre; entonces se obtienen falsas ramificaciones como las que representa la figura 36.

SPIRILLUM CHOLERÆ Koch.—Los trabajos de Koch le condujeron al descubrimiento, en el intestino de los coléricos, de bacterias curvas, que considera como especiales á la enfermedad y en razón directa de causalidad con ella. Numerosas investigaciones ulteriores, entre las cuales deben citarse en primer lugar las de Nicatí y Rietsch, Van Ermengem, Doyen, confirmaron en un todo los resultados anunciados por Koch y pusieron fuera de duda particularidades del más alto interés concernientes á la etiología, la patogenia y la profilaxia de este terrible azote.

Los *espirilos del cólera* se encuentran en gran número en el contenido intestinal de los individuos muertos del cólera; abundan principalmente en la capa blanquecina, caseosa, poco adherente, que cubre la mucosa del intestino delgado, principalmente en los casos de terminación rápida (fig. 150). A menudo están mezclados á las diversas especies que pululan en el intestino, hasta en estado normal; otras veces existen sólos á exclusión completa de estos últimos; este mucus constituye un verdadero cultivo puro.

Para observarlos, se extiende este líquido sobre una lámina y se deja secar á la temperatura ordinaria, para evitar una deformación de los elementos; se colorea durante medio minuto en una solución concentrada de violeta de metilo ó de fucsina y se lava rápidamente. Secada la preparación por una corriente de aire, puede montarse en el bálsamo. Estos *espirilos* se decoloran muy fácilmente, por esto debe evitarse el lavarlos al alcohol; tratados por el método de Gram, pierden su color; entonces es posible llegar á una doble coloración que les haga distinguir de otras especies á que estén mezcladas. Doyen recomienda la técnica siguiente: Las preparaciones se colorean durante diez minutos á 40° en un baño de agua de anilina á la que se adicionó violeta de metilo, luego se someten durante ocho minutos á la acción de la solución yodo-yodurada de Gram; se les lava al alcohol absoluto y se les trata por la esencia de clavos; se pasan de nuevo por el alcohol absoluto; luego se sumergen algunos segundos en una fuerte solución acuosa de fucsina; en fin lavadas, secadas al aire y montadas. Los *espirilos del cólera* se colorean de rojo, las demás bacterias de violeta intenso.

Estas bacterias penetran fácilmente en la pared intestinal; se observan con frecuencia en el espesor de las vellosidades ó en glándulas en tubo; pasan la sub-mucosa y pueden encontrarse hasta en las capas superficiales de los folículos linfáticos. Se aperciben sobre los cortes, que Doyen aconseja tratar como sigue: Los cortes se colorean á 45°, durante

media hora, por medio de una solución acuosa concentrada de violeta, puestos un minuto en una solución de sublimado al 1 por 100, y decolorados por el alcohol absoluto y la esencia de clavos. La solución de Ehrlich, seguida del empleo del método de Gram, no da buenos resultados.

Son cortos palitos, de 1'5 μ á 3 μ de largo por 0'4 μ á 0'6 μ de ancho. Su curvatura varía entre amplios límites (fig. 151 y 152). Con frecuencia es poco pronunciada; el elemento puede afectar una forma que recuerde la de una coma, de ahí el nombre de *bacilo-coma*. Otras veces el arco es más encorvado, describe casi una semicircunferencia. Estos elementos vistos al microscópico, parecen á menudo rectos, por no estar colocados según el plano de su curvatura, pero vistos del lado de su concavidad ó de su convexidad. En fin, se encuentran en los cultivos en caldos, formas en 5 y largos filamentos espirales, de muchas vueltas poco apretadas; á menudo mas bien onduladas. Todas estas formas tienen un movimiento rápido que con frecuencia describe una espiral. La motilidad, muy viva á 30°-35°, cesa casi completamente á 16°.

Los cultivos muestran con frecuencia formas de involución numerosas, elementos redondeados, que se han tomado por esposas, otros entumecidos, irregularmente hinchados. Algunos llegan en uno de sus extremos grandes esferas de 3 μ á 4 μ, regulares ó deformadas. Semejantes monstruosidades fueron descritas como normales, por Ferrán, y tomadas como órganos reproductores.

Los observadores citados no notaron la producción de esporos. Según Hüppe, se forman, sin embargo, á expensas de los artículos verdaderos elementos durables, á los cuales atribuye el valor de esporos. Un palito que va á producirles se vuelve inmóvil, luego se divide en dos esferas, que á menudo permanecen apegadas, rodeadas de una espesa membrana gelatinosa. Entre 22° y 37° es cuando se puede estudiar mejor este fenómeno. Los cuerpos esféricos así producidos son para él *artrosporas* inmóviles, que germinan directamente dando un palito curvo; tienen una resistencia algo mayor que los palitos simples; los cultivos viejos que los contienen son todavía fértiles después de un año.

Esta especie presenta, no obstante, una vitalidad muy débil. Los elementos mueren á la media hora de desecación á la temperatura ordinaria; los líquidos, un calor de 50°-55° les es siempre fatal. Pequeñas proporciones de ácidos minerales detienen ó impiden su desarrollo; una ó dos gotas de solución de ácido clorhídrico al 1 por 100 bastan para llegar á este resultado. Los ácidos orgánicos son mucho menos activos. Mínimas cantidades de antisépticos detienen todo crecimiento; basta añadir á los caldos de cultivo, entre otras substancias, para ver como dejan de ser fértiles, 1: 100000 de sublimado, 1: 50000 de sulfato de quinina, 1: 25000 de sulfato de cobre, 1: 400 de ácido fénico.

El *espirilo del cólera* es un verdadero aerobio; no crece resguardado del aire. En estas condiciones, los movimientos cesan muy aprisa y las células perecen, si la privación de oxígeno se prolonga.

Los cultivos se obtienen fácilmente en los medios comunes; la bacteria parece, no obstante, muy exigente en substancias nutritivas. Crece muy mal en el agua esterilizada; en pocos días el líquido sembrado pierde su poder fertilizante para nuevos cultivos. El agua rica en materias orgánicas es más favorable, mucho menos sin embargo para esta especie que para otras igualmente patógenas, el *bacilo tífico* particularmente, que vegeta en ella con abundancia y conserva mucho tiempo su vitalidad; Nicak y Rietsch conservaron en vida el *espirilo del cólera* durante veinte días más en el agua del viejo puerto de Marsella, muy salada y cargada de materias orgánicas.

Las bacterias de putrefacción parecen oponerse al desarrollo del *espirilo del cólera* y hasta logran hacerle desaparecer rápidamente. Al principio sin embargo, esta especie domina en un cultivo mezclado; sólo después de cierto tiempo cede el paso á las otras. Según Schottelius, se encontraría en esta particularidad un precioso socorro para hacer constar el *bacilo-coma* cuando es poco abundante en las deyecciones con un volumen proximamente doble de jugos de carne esterilizada, notó que en doce horas, á 30° ó 38°, la super-

ficie del líquido se cubría de *espirilos del cólera,* excesivamente abundantes, que constituyen casi un cultivo puro. En pocos días, éstos declinan; el medio es invadido por las especies de putrefacción que hacen desaparecer completamente los primeros. Flebs y Ceci notaron un hecho semejante con las deposiciones de los coléricos; conservándoles en un cuarto húmedo, se ve al *espirilo del cólera* pulular en ellos durante los dos ó tres primeros días, luego es completamente destruído por las otras especies pasado este período de tiempo. Van Ermengem obtuvo resultados idénticos sembrando lienzos mojados mantenidos en estufa.

Pero el verdadero método para aislar esta bacteria es el de los cultivos sobre placas. Las colonias obtenidas presentan caracteres que permiten reconocerles fácilmente (fig. 160). En veinticuatro horas, á 18° próximamente, se aperciben en la jalea pequeños puntos blanquecinos. Los que se encuentran en la capa superior son algo mayores que los de la masa inferior. Con un débil aumento, son pequeños discos granulosos, casi transparentes, de bordes algo sinuosos, que Van Ermengem compara á glóbulos blancos redondeados. La apariencia granulosa se acentúa al día siguiente, la colonia parece una aglomeración de pequeñas perlas de vidrio. Al tercer día los bordes se vuelven dentados, menos distintos, empiezan á fundirse; al mismo tiempo la licuación de la gelatina se hace manifiesta, la colonia se hunde en una cavidad cupuliforme. Al cuarto día se distingue una parte central, una especie de muclo, ligeramente amarillento, con bordes desbriznados (figura 152), rodeada de una zona anular de gelatina licuada. La placa pronto es enteramente licuada; el líquido muy turbio, amarillento, exala un olor parecido al de la orina de ratones. Después de tres días se encuentran ya numerosas formas de involución en las colonias de los cultivos sobre placas.

En un tubo de gelatina inoculado en picadura, se ve formarse, á la vigésima hora, á 20°, una pequeña depresión en la superficie en el punto de inoculación. La jalea se va llenando de cavidades, al mismo tiempo que la copa superficial de la excavación se licua. A lo largo del canal se produce un cultivo blanquecino, turbio. Al cabo de un día el aspecto es el representado en la figura 155. Se ve en la parte superior una excavación muy pronunciada, en forma de casquete esférico ú oval, al fondo del cual se encuentra un poco de líquido. Al segundo día (fig. 156), el cultivo ha crecido; el espacio vacío es más del doble; mirándole de lado, ofrece la ilusión de una burbuja de aire incluída en la jalea, coronando el delgado cultivo blanco que se desarrolla en el canal de la picadura. La licuación se extiende lentamente los días siguientes; al sexto ó séptimo día ha alcanzado las paredes del tubo; los caracteres de los primeros días han desaparecido. Las bacterias hacen fluída poco á poco toda la parte superior del tubo; sobre la gelatina que permaneció sólida se encuentra una capa blanquecina más ó menos espesa, que encierra muchas bacterias. El líquido turbio que la corona no encierra tantas; son más abundantes en la superficie que puede cubrirse de una delgada película parda. La rapidez de la licuación depende de la vitalidad del cultivo, de la potencia nutritiva del medio y sobretodo de la temperatura. A 16° la licuación se retrasa mucho, luego se detiene. El aspecto de este cultivo es bastante especial, si bien que cierto número de especies ofrecen alguna analogía; parece que estas bacterias determinan una evaporación del agua del medio, que ocasiona la excavación de la parte superior del cultivo.

Sobre gelosa, á 37°, se observa en pocos días una espesa capa blanquecina. Los cultivos viejos muestran gran número de formas de involución.

El suero se licua dando un líquido denso y viscoso en el cual pululan espirilos.

Sobre patata á 37° se forma una delgada capa pardusca, que se parece un poco al cultivo del *bacilo del muermo.*

El caldo se enturbia rápidamente, en menos de cuarentiocho horas á 22°, se cubre en tres ó cinco días, de una tenue película, frágil, de color blanco sucio.

Los cultivos tienen siempre una reacción alcalina. Desarrollan un olor algo insípido, etéreo.

Brieger retiró de los cultivos puros una materia colorante roja (*Cholera-Roth*), y otra materia colorante fluorescente de color rojo azulado. La primera substancia se separa tratando el cultivo por el ácido sulfúrico y luego por el éter que se apodera del producto. Puede utilizarse esta reacción para caracterizar un cultivo de cólera. Según Budjwid, añadiendo 5 ó 10 por 100 de ácido clorhídrico á un cultivo puro se observa, al cabo de algunos minutos, á veces algunos segundos, una coloración rosa violeta que brilla á la luz. La coloración es más limpia con cultivos hechos á 37° todavía calientes; no aparece con cultivos impuros. Para Ali-Cohen, la reacción sólo se produce con los ácidos minerales que contienen ácido nitroso, los ácidos puros no la producen. Además dista mucho de ser especial *esperilo del cólera;* otras especies la presentan idéntica ó poco distinta, en particular las especies vecinas: *spirillum Finckleri, s. tyrogenum, s. sputigenum.*

Nicati y Rietsh lograron inocular con éxito deyecciones coléricas y cultivos puros, en cobayas. La ingestión de dósis medianas por vía estomacal no dió ningún resultado á causa de la acción perjudicial del jugo gástrico sobre las bacterias poco resistentes, por lo cual imaginaron llevar directamente al intestino el producto virulento, inyectándolo en el duodeno por medio de una jeringa provista de un trocar capilar. La irritación del intestino, causada por la operación, debe además desempeñar el papel de ayudante, creando una verdadera predisposición. Koch obtuvo resultados positivos inyectando primero en el estómago una solución de carbonato de sosa y el cultivo puro, luego, en el peritoneo, una pequeña cantidad de tintura de ópio. Para él el carbonato alcalino servía para neutralizar el jugo gástrico; la tintura de ópio paralizaba el intestino y permitía al producto virulento permanecer en su cavidad y crecer en ella. Doyen piensa que la tintura de ópio obra principalmente por su alcohol, puesto que éste ingerido sólo en el estómago muestra igual actividad. Se debe emplear una dósis de alcohol suficiente para determinar la embriaguez; de 1^{cc}'6 á 1^{cc}'8 de alcohol á 40° por 100 gramos del peso del animal bastan comúnmente. El alcohol obra quizás haciendo alcalina, la secreción intestinal ó llevando la temperatura á 37°; á 40°, en efecto, el *bacilo coma* se desarrolla con mucha dificultad.

En estas condiciones los síntomas del cólera experimental se desarrolla en la cobaya del modo siguiente: La inyección de alcohol en el estómago ó el peritoneo hace caer al animal en un sopor que dura una ó dos horas. Al despertar está abatido; la temperatura de su grado normal 39°'50' 40°, baja á 34°. El pelo es seco, erizado; la temperatura todavía puede bajar á 32°. La muerte llega á veces muy aprisa, al cabo de cuatro ó cinco horas; generalmente sobreviene antes de veinticuatro horas, algunas veces, sólo al cabo de dos, tres ó cuatro días. Los animales tienen el vientre hinchado, muy sensible; les ataca una diarrea amarilla, que se vuelve casi incolora, viscosa, con numerosos grumerulos en suspensión. Se ponen muy flacos y se debilitan en extremo si este estado dura algunos días. El animal muere en la algidez y el coma.

En la autopsia el estómago contiene un mucus claro; el intestino delgado contiene un líquido caseoso, viscoso, muy adherente á la mucosa; el intestino grueso está á menudo hinchado por las materias diarreicas. El estómago ofrece á veces espirilos característicos; son muy abundantes en el líquido caseoso del intestino delgado, sobre todo en los casos fulminantes. El intestino presenta las lesiones del cólera en el hombre. Su revestimiento epitelial y una parte de la capa subyacente desaparecieron; los elementos deformados se vuelven á encontrar en el producto caseoso. Los espirilos y otras bacterias del intestino han podido penetrar entonces en las villosidades, en las glándulas en tubo y hasta en la capa submucosa. El líquido peritoneal sólo las contiene cuando existe una perforación intestinal.

Se han observado ciertos efectos que parecen debidos á productos solubles segregados por las bacterias. Villiers retiró del contenido estomacal un alcaloide líquido de olor de ojiacanto, que determinaba en la cobaya desórdenes cardíacos muy pronunciados. Una dósis de 6 miligramos, inyectada bajo la piel, le hace perecer en tres ó cuatro días con el co

razón en diástole, lleno de sangre, y los pulmones son equimosis en la superficie. Klebs extrajo de cultivos hechos sobre pez cocido una tomaina cristalizable que determina en el conejo contracciones espasmódicas de los músculos y ocasiona una rápida degeneración de las células epitaliales de los tubos uriníferos. Pouchet obtuvo de las deyecciones coléricas una tomaina líquida que se oxida muy á prisa al aire y á la luz y se colorea de rosa, luego de pardo. Esta base es volátil; sus vapores determinan accidentes de intoxicación bastante intensa. Los que Pouchet experimentó él mismo consistían en un enfriamiento muy marcado, dolorosas contracciones espasmódicas de los miembros, una anuria completa, síntomas propios del cólera.

Fuera del organismo enfermo, el *espirilo del cólera* sólo se ha encontrado en el agua. Koch lo encontró con grande abundancia en un estanque que servía á l alimentación de un pueblo de India donde el cólera es endémico. El agua recibía deyecciones de enfermos y servía para lavar la ropa sucia. Rietsch lo aisló durante la última epidemia que se cebó en Marsella, del agua del Puerto Viejo donde desembocan las cloacas de la población. Babés lo señaló, no obstante, en los efectos de enfermos y en el polvo de locales donde permanecieron los coléricos.

El papel etiológico del espirilo que estudiamos, parece hoy perfectamente establecido. Su presencia constante en los casos de verdadero cólera, su ausencia en otros estados patalógicos similares y en el estado normal, los efectos patógenos provocados en los animales por sus cultivos puros, demuestran hasta la evidencia que es el agente específico de esta enfermedad.

Sin embargo se han encontrado especies de caracteres muy parecidos, en la naturaleza ó en el organismo, fuera de los casos de cólera. Miller y Lewis señalaron la presencia en la saliva y el sarro dental de una especie análoga, el *spirillum sputigenum,* que al contrario del *espirilo del cólera,* no se cultiva en ninguno de los medios habituales. Deneke encontró uno en queso, el *spirillum tyrogenum,* que se distingue por los caracteres de sus cultivos y sus efectos casi nulos sobre el organismo.

Finckler y Prior descubrieron en las heces de varios enfermos atacados del *cólera nostras,* una bacteria muy parecida á la del verdadero cólera del cual no podía distinguirse, según decían. El estudio comparado y atento de los cultivos de estas dos especies permite diferenciarlas fácilmente. En cultivo sobre placas, las colonias del *espirilo de Finckler y Prior* aparecen antes y se desarrollan con más rapidez. Ya han alcanzado 1 ó 2 milímetros cuando los del *espirilo del cólera* forman pequeñas puntas apenas visibles. La figura 154 representa á la izquierda una colonia de la primera especie después de veinticuatro horas de crecimiento á 22°; á la derecha se encuentra una colonia de la segunda especie sembrada al mismo tiempo, en la misma placa de gelatina; siendo igual el aumento es fácil darse cuenta de la diferencia de tamaño. Las colonias ofrecen además poca analogía en su aspecto con un mediano aumento; la comparación de las figuras 153 y 154 hará comprender la distinción. Las colonias del *espirilo de Finckler* son pequeños islotes redondeados, de contornos circulares, finamente granulosa, de un tinte amarillento; la licuación progresa con mucha más rapidez, en cuarentiocho horas pueden alcanzar 2 ó 3 centímetros de diámetro. En picadura en un tubo de gelatina, las dos especies se desarrollan del mismo modo, pero el *espirilo del cólera* presenta un retraso manifiesto respecto á la otra especie. Las figuras 156 y 83 representan el estado de los cultivos de estas dos especies al mismo tiempo, en una gelatina de composición idéntica, á una misma temperatura. Finalmente los efectos patógenos del *espirilo de Finckler* son mucho menos marcados que los del *espirilo del cólera*. El contenido intestinal de las cobayas que sucumben tiene un aspecto muy distinto; siempre es muy líquido y exhala un olor de putrefacción lo cual no sucede en el verdadero cólera.

Sabemos que Emmorich describió bajo el nombre de *bacillus neopolitamus,* una bacteria que aisló del contenido intestinal de coléricos y que considerada como el agente es-

pecífico del cólera, nada confirma la opinión de este observador.

Héricourt encontró en agua de diversas procedencias, en el aire, en el polvo, bacterias encorvadas que refiere, sin razón válida alguna, á los *bacilos-comas* patógenos. No se puede sacar absolutamente ningún provecho de estas observaciones que no dan ningún carácter preciso, morfológico ó biológico.

El cólera es endémico en ciertas partes de la India, la región de la baja Bengala sobre todo. Allí el agente virulento encuentra reunidas muchas de las condiciones necesarias á su vitalidad y á su propagación. En estas comarcas calientes y húmedas, existen muchas localidades con aguas estancadas, muy ricas en materias orgánicas en donde se vierten de tiempo inmemorial los detritus de las poblaciones ribereñas ó de multitudes atraídas en peregrinación por la celebridad religiosa de estos lugares. La infección tiene ocasión de hacerse; las caravanas de regreso siembran las enfermedades en todo el camino. Entonces, la enfermedad sólo aparece en forma epidémica, acarreada directamente, ó propagándose por etapas sucesivas, llegando así hasta Europa, generalmente por vía del mar donde el transporte es más rápido y menos fácil de impedir. En este caso, cuando se propaga en un centro, alcanza más ó menos rápidamente un máximo, luego declina y desaparece completamente; una nueva epidemia tiene siempre por causa una nueva contaminación.

El único medio de infección parece ser el transporte directo, la importación directa por el hombre, del agente virulento. El estudio biológico del *espirilo del cólera,* además de las notas hechas desde mucho tiempo por los higienistas, bastan para probarlo. El aire no puede servir de vía de transporte; sabemos que una desecación, aunque se prolongue poco, es fatal para los cultivos aun los más virulentos. El papel del agua potable es probablemente secundario. El agua común es un mal medio para esta bacteria; sólo vive en ella poco tiempo y aun cuando contiene gran proporción de materias orgánicas. Quizás se deban exceptuar ciertas aguas muy ricas en detritus orgánicos, como las aguas de albañal ó las que permanecen en la sentina de los buques, que pueden entonces convertirse en verdaderos medios nutritivos para gran número de especies de organismos inferiores. Nuestra especie evidentemente ha de poder vegetar en ellas bastante tiempo, para transportar la enfermedad lejos del punto de partida, si no la detienen otras más invasoras, especies de putrefacción sobretodo. En las aguas potables comunes ha desaparecido al cabo de algunos días. Pero entonces el agua puede esparcir muy aprisa la enfermedad en un mismo centro cuando está contaminado y tanto mejor cuanto que la suciedad se renueva á cada momento. De ahí, la marcha rapidísima de las epidemias en las localidades en que el agua es rica en materias orgánicas y se contamina fácilmente. Es preciso, además, tener en cuenta las disposiciones climatéricas ó telúricas. todavía poco conocidas, que hace que ciertos lugares sean libres y otros muy castigados; quizás también debe atenderse á una higiene general mejor entendida, á las costumbres especiales de los habitantes y á una limpieza mayor. Predisposiciones individuales, desórdenes intestinales sobre todo, probablemente también el uso poco moderado de bebidas alcohólicas como lo demuestran los experimentos indicados, desempeñan un gran papel en la infección. El origen de la contaminación debe buscarse en las deposiciones de los coléricos; allí es donde se debe tratar de combatirla. Las deyecciones y las ropas manchadas con ellas deben ser el objeto de una continua vigilancia.

La condición indispensable para que una persona sea atacada del cólera es la penetración del *bacilo coma* de Koch en su tubo digestivo. Pero precisa que el agente virulento atraviese el estómago y pueda permanecer bastante tiempo en el intestino para pulular en él. Allí es donde intervienen entonces las condiciones que predisponen á la enfermedad; el terreno puede volverse favorable por modificaciones patológicas benignas; una ligera inflamación modificaría el estómago y el intestino de tal suerte que la invasión por el parásito podría operarse. Los gérmenes infecciosos pueden ser suministrados de diversas maneras. El agua de bebida, los alimentos crudos, sobre los cuales se han depositado di-

rectamente ó por medio del agua de riego, deben constituir uno de los medios habituales; el polvo ó las manos que tocaron objetos ensuciados por coléricos son también con razón sospechosas.

Aquí, quizás más todavía que para la fiebre tifóidea, deben tomarse precauciones en tiempo de epidemia. Son por lo demás más fáciles de aplicar que en esta última enfermedad, y de ellas se puede esperar más provecho, puesto que el *espirilo del cólera* ofrece una resistencia mucho menor que el *bacilo típico*. El agua de bebida debe filtrarse ó hervirse, los alimentos se han de comer siempre cocidos. La desinfección de las deposiciones, de las secreciones de los enfermos, de todos los objetos ensuciados por ellos debe hacerse con cuidado. El agua hirviente, la desecación prolongada á alta temperatura, las soluciones débiles de sublimado ó de ácido fénico, son todas buenas, vista la débil resistencia de la bacteria patógena. Los cadáveres de los coléricos exponen á menos peligros, sobre todo cuando están bien amortajados y enterrados á suficiente profundidad, sin peligro de suciedad inmediata para las aguas vecinas. La putrefacción destruye, en efecto, muy aprisa la vitalidad del *espirilo del cólera*. El enterramiento precipitado no está pues justificado, con la condición sin embargo de que se haya amortajado con cuidado. Si hay líquidos ó sangre que se deslicen por objetos cualesquiera, se les debe aplicar uno de los procedimientos de desinfección citados.

De todo esto resulta la importancia extrema de aislar los primeros casos. El diagnóstico puede ser difícil, principalmente si la enfermedad es benigna, lo cual no implica de ningún modo el mismo carácter para los casos precedentes de contagio; un caso benigno puede muy bien ser el origen de una epidemia mortífera. Entonces es cuando se debe hacer primeramente el examen bacteriológico de las deposiciones, para establecer si está ó no el *bacilo coma* de Koch.

Un primer ataque de la enfermedad no parece conferir ninguna inmunidad; el cólera puede atacar varias veces una misma persona. Las tentativas de vacuna conocidas hasta ahora no han dado ningún resultado serio. Los estudios que hizo Ferrán sobre este punto no merecen más crédito que sus observaciones morfológicas. A la hora presente, parece demostrado que la represión del cólera y de la fiebre tifóidea dependen directamente de una higiene bien comprendida y bien aplicada.

Spirillum Finckleri. Finckler y Prior.— Finckler y Prior encontraron en las deposiciones de individuos atacados de *cólera nostras,* una bacteria encorvada que daban como idéntica al *espirilo del cólera* y que presente en efecto grandes semejanzas con esta última especie. Sólo siguiendo paso á paso y paralelamente el desarrollo de los cultivos de ambas especies, con cultivos hechos en condiciones de inoculación, de temperatura, de medio nutritivo, completamente semejantes, logró Koch establecer su distinción de un modo preciso.

Este espirilo se encuentra principalmente en las materias fecales sólidas del principio de la enfermedad; Koch y Van Ermengem lo buscaron en vano en las deposiciones líquidas, riciformes. Es fácil hacerlo constar por medio de cultivos sobre gelatina y principalmente sobre placas.

Los palitos son algo mayores y más largos que los del *espirilo del cólera*. Los extremos son menos espesos que la parte central y terminan en punta, mientras que en esta anchura, vistos de cara, los palitos recuerdan la forma de un limón, dice Koch. Los movimientos son idénticos. Finckler y Prior describieron una formación de esposas en artículos que se hinchaban un poco volviéndose disformes; su aserción no se ha verificado; además que sólo observaron cultivos impuros. La especie presenta numerosas formas de involución, muy fáciles de obtener en los cultivos, hasta en lo poco adelantados; son cambios accidentales de forma que condujeron á Büchner á proponer para esta especie el nombre de *vibrio proteus*.

El *espirilo Finckleri* es aerobio. Los cultivos se hacen fácilmente en todos los medios. El desarrollo es muy rápido; casi se hace tres veces más aprisa que el *spirillum choleræ* sobre los mismos medios.

En cultivos sobre placas de gelatina, se observan pequeños cultivos amarillentos, gra-

nulosos, circulares, con bordes distintos cuando son pequeños. La licuación puede empezar al cabo de un día; los bordes pierden entonces su limpieza y se funden por decirlo así en el líquido ambiente. La licuación marcha rápidamente, á veces en cuarentiocho horas toda la placa es líquida. Las colonias de *espirilo del cólera* obtenidas en las mismas condiciones, son menos granulosas, tienen los bordes sinuosos al principio, luego dentados en forma de sierra cuando la licuación empieza; su desarrollo es menos rápido. Este último carácter es muy aparente en la figura 154 que representa, una al lado de otra, colonias de cada una de las dos especies, en la misma edad y en idénticas condiciones.

En picadura en un tubo de gelatina, la licuación produce un embudo semejante al de la primera especie, pero progresa mucho más aprisa. En cuarentiocho horas, de 20° á 25°, alcanza el fondo de la picadura y se forma un saco de licuación (fig. 83), cuando el embudo del *espirilo del cólera,* en las mismas condiciones es todavía muy distinto, que su canal apenas presenta vestigios de licuación. En tres días se licua completamente la jalea del tubo. Como en el *espirilo del cólera,* la licuación marcha con lentitud á 16° y se detiene á una temperatura inferior.

Sobre gelosa se forma una faja blanca, algo amarillenta. Sobre patata, á la temperatura ordinaria, forma una capa mucosa blanca, de bordes sinuosos, mientras que en estas condiciones, el *espirilo del cólera* no se desarrolla y produce, á una temperatura superior de 25°, una capa pardusca. El suero se licua rápidamente.

Todos los cultivos despiden un olor pútrido muy apreciable.

El *spirillum Finckleri* no muere por una larga desecación y resiste mucho más que el *espirilo del cólera* la invasión de las bacterias de putrefacción.

Las inyecciones estomacales hechas según el método de Koch, ó duodenales según el procedimiento de Nicati y Rietsch para la bacteria del cólera, matan con frecuencia las cabayas, pero no de un modo constante como en la otra especie. Probablemente se producen también tomainas, parecidas ó idénticas á las que se señalaron en los cultivos de cólera, ocasionando síntomas análogos á los del verdadero cólera asiático, principalmente contracciones espasmódicas, algidez, anuria.

Quizás se deban referir á esta especie los *bacilos encorvados* que Miller señaló en los dientes cariados, y que Héricourt aisló del aire y del agua. Estos últimos, entre otros, deben desempeñar un gran papel en los casos muy frecuentes en verano, de enteritis coleriformes observados á causa de la absorción de agua de mala calidad. Este *spirillum Finckleri* es también probablemente idéntico con las *falsas comas,* que Nicati y Rietsch encontraron en las materias fecales del hombre y de varios animales.

SPIRILLUM SPUTIGENUM Lewis.—Lewis señaló en la saliva de individos sanos, espirilos idénticos á los del cólera en dimensiones, aspecto y vivacidad de movimientos. Pero no se cultivan en ninguno de los medios habituales, en las condiciones en que el *espirilo del cólera* vegeta con abundancia.

SPIRILLUM TYROGENUM. Deneke.—Deneke aisló del queso una bacteria encorvada, que presenta también grandes afinidades con el *espirilo del cólera,* bajo el punto de vista morfológico, pero del que se distingue fácilmente por los caracteres de sus cultivos.

Son palitos curvos, algo menores que los del cólera, que dan con más facilidad filamentos espirales con varios vueltas. Son aerobios y licuan la gelatina más á prisa que el *espirilo del cólera,* pero menos que la especie de Finckler y Prior.

Sobre placas de gelatina, forma pequeñas colonias circulares, parduscas, de contornos obscuros, limpios; la colonia palidece cuando empieza la licuación. En picadura se produce en cuarentiocho horas un saco de licuación menos marcado que con el *espirilo de Finckler.*

Sobre gelosa se obtiene una faja delgada de color blanco amarillento; nada sobre patata ni aun en estufa. El suero se licua rápidamente.

Por simple ingestión, esta bacteria no produce ningún efecto. Operando según el método de Koch para el cólera, mueren tres cobayas de cada quince. La especie es probable que tenga una acción patógena.

Spirillum Obermeieri Cohn.—Esta bacteria fué encontrada, en 1873, por Obermeieri en la sangre de enfermos atacados de fiebre recurrente. Luego muchos observadores verificaron su descubrimiento; sin embargo hasta ahora nadie ha podido obtener cultivos puros.

Son largos filamentos ondulosos cuya longitud varía de 15 μ á 50 μ por una anchura máxima de 1 μ; describen una espiral que consta de diez á veinte vueltas generalmente (figura 157). Los movimientos son muy vivos; consisten en un movimiento de torsión en el sentido de la espiral y un movimiento de flexión del cuerpo, que puede ondular como una serpiente. Los esporos no se conocen con certeza.

Se les encuentra con abundancia en la sangre de los enfermos, y nunca en las secreciones. Allí están durante el acceso de fiebre y desaparecen completamente algunas horas después. Vuelven á aparecer en el momento de las recaídas, que preceden de tres ó cuatro horas y pueden entonces anunciarlas. El acceso febril puede durar una decena de días; al cabo de un día ó dos es cuando el número de espirilos que contiene la sangre es más considerable. Los casos graves ofrecen muchos más que los casos benignos. Se observan fácilmente coloreándoles con el violeta de anilina; es más difícil sin reactivo; empleando un agua muy salada se les puede conservar más tiempo en vida y estudiar sus movimientos. El azul de metilo es casi inactivo; la fucsina sólo les colorea débilmente.

Koch y Carter pudieron transmitir la enfermedad á monos, inyectándoles bajo la piel pequeñas cantidades de sangre desfibrinada de enfermos atacados de fiebre recurrente grave. Cinco días después de la operación se declaraba en todos un fuerte acceso de fiebre que duraba ocho días. Durante ese tiempo la sangre mostraba numerosos espirilos. Ninguno sin embargo presenta recaída. Un primer ataque no confiere ninguna inmunidad; algunos fueron inoculados con éxito varias veces, á intervalos de algunas semanas. Lo mismo sucede en el hombre; un primer ataque por grave que sea, jamás preserva de las recaídas.

Las explicaciones que de estos curiosos hechos se dieron son puramente hipotéticas, y no se basan en ningún hecho de observación. La planta introducida en la sangre pulularía en ella agotándola, primer acceso que dura seis ó siete días. No siendo ya el medio favorable, se formarían esporos, que permanecerían algún tiempo antes de germinar, dejando al organismo rehacerse; en esto consiste la remisión que dura ocho días. Reparada la sangre, los esporos germinarían y las bacterias invadirían el cuerpo; segundo acceso menos largo que el primero en general, quizás porque la sangre se agota más aprisa. La segunda remisión es más larga; el organismo fatigado necesita más tiempo para rehacerse. El número de recaídas es variable, tres, cuatro y más; la duración del acceso dura más y más hasta que se extingue. Desgraciadamente, la formación de esporos en la cual se apoya esta teoría, ni aun se ha hecho constar todavía.

Para Metschnikoff, la desaparición de los espirilos y del acceso que ocasionan se debe á su absorción por las fagocitas del bazo; en efecto, son muy abundantes en este órgano, al final de la crisis, cuando la sangre ya no ofrece ninguno.

Esta bacteria patógena jamás fué encontrada fuera del organismo enfermo. Se conocen muy poco las condiciones de la infección. Las aguas de bebida son sospechosas. El contagio directo de hombre á hombre parece cierto. El desaseo, la miseria, el hambre, son causas de las más poderosas.

Spirillum rugula Müller.—Es una especie mal definida, cuyos caracteres se conocen poco, apesar de su frecuencia. Abunda en las aguas corrompidas, los líquidos podridos, el sarro dental. Como es anerobia, sólo se desarrolla al mismo tiempo que otras formas que absorban el oxígeno que le perjudica.

Los elementos son palitos de 6 á 16 μ de largo por 0'5 á 2'5 μ de ancho, encorvados en arco ó formando una vuelta de espiral, muy aplanada (fig. 158, A, B, C). Están aislados ó reunidos en cortas cadenas, á veces asociados por mucílago en zoogleas filamentosas. Los movimientos son vivos; los palitos se mueven ora sencillamente en línea recta, ora

volviéndose sobre sí mismos; según Koch, uno de los extremos lleva un cirro.

Los cultivos deben hacerse resguardados del aire.

En estas condiciones, sobre placas de gelatina, forma pequeñas manchas esféricas, amarillentas, que se rodean, desde el tercer día, de una zona de licuación.

Según Vignal, da en picadura cultivos en una atmósfera de hidrógeno; la licuación empieza al día siguiente é invade todo el tubo en ocho días. Al aire libre, podría desarrollarse en las capas profundas de la gelatina.

Sobre gelosa, se observan en dos días pequeñas manchas blancas, que se extienden más tarde y forman una tenue película plegada.

El suero se licua. El caldo se enturbia rápidamente y ofrece un depósito blanco abundante.

Según Prazmowski, cultivado sobre patata, forma en ella una membrana blanca amarillenta, rizada, que envía tractos que penetran profundamente en la substancia del medio.

Los cultivos despiden un olor fecaloide intenso. La acción fisiológica es poco conocida; Prazmowski le considera como un agente enérgico de la descomposición de la celulosa.

SPIRILLUM BUCCALE Cohn.—Es frecuente en el sarro dental. Es un largo filamento que mide de 15 á 20 μ, cuyos extremos terminan en punta y describen una línea ondulada simple mejor que una verdadera espiral. Los movimientos son muy lentos ó faltan completamente.

SPIRILLUM PLICATILE Ehrenberg.—Son delgados filamentos que forman una espiral de numerosas vueltas estrechas y apretadas (figura 148), que pueden plegarse sobre sí mismas formando nudos ó espirulinas. La longitud alcanza á menudo 100 ó 200 μ, por una anchura de 0'5 μ. Los extremos son redondeados. Los movimientos son muy rápidos, de torbellino; se puede distinguir una viva rotación y repetidas ondulaciones.

Estas formas son muy comunes en todas las aguas estancadas, principalmente en aquellas en que se encuentran plantas vivas ó muertas.

SPIRILLUM SERPENS Müller.—Es común en las aguas estancadas y en los líquidos podridos. Los elementos miden de 11 á 28 μ de largo por 1 μ de ancho y describen tres ó cuatro vueltas de espiral aproximadas. Sus movimientos son vivos. Pueden reunirse en copos ó en películas superficiales, aglutinándose por materia mucosa.

SPIRILLUM ENDOPARAGOGICUM Sorokin.—Sorokin observó, en los huecos del tallo carcomido de un viejo álamo, un líquido blanquecino, viscoso, de olor desagradable, en el cual pululan espirilos muy móviles, con los cuales no está mezclado ningún otro organismo.

Son esferas de vueltas poco numerosas, dos por lo común, tres en las más grandes y bastante irregulares, cuyo contenido es transparente y carece de toda granulación. Se reproducen rápidamente por división, permaneciendo á veces unidas en zoogleas, pero siempre en corto número.

Al lado de los individuos móviles, se encuentran otros sin movimiento que encierran esporos ovales, brillantes, de diámetro menor que el del filamento, cuyo número es tanto mayor cuanto más larga es la célula madre; estos órganos reproductores germinan en el interior mismo de la célula madre; de allí sale primero un palito recto, que se ve encorvado al cabo de quince ó veinte minutos. Los espirilos pequeños pueden desprenderse de la célula madre; á menudo permanecen unidos con ella dando formas ramificadas, como las que representa la figura 36. En el punto del esporo, sólo se encuentra una pepequeña masa de finas granulaciones.

SPIRILLUM AMYLIFERUM Van Tieghem.—Van Tieghem lo encontró en el agua con el *leuconostoc mesenteroides*. Son filamentos rígidos, arrollados hacia la derecha, que tienen de 2 μ á 1'5 μ de ancho y describen de dos á cuatro vueltas de espiral; el paso de la hélice tiene generalmente 6 μ. Cuando un artículo consta de cuatro vueltas, se divide. A medida que se multiplican por división, se vuelven amarillentos simplemente por el yodo.

Esta especie puede dar esporos. El filamento que va á esporular cesa de alargarse, se vuelve más grueso y más refringente; el yodo le

colorea de azul, salvo dos sitios, que si la espiral es de dos vueltas, permanecen blancos. Estas dos manchas se encuentran á veces en cada uno de los extremos, otras veces una en un extremo, otra al centro, y con menos frecuencia ambas en el centro. Probablemente se forma un tabique que separa el artículo en dos. En cada lugar blanco se forma un esporo brillante, oval, de 2'5 μ á 3 μ de largo por 1'5 μ de ancho. El filamento ya no se vuelve azul por el yodo. El tabique que separa las dos vueltas se hace evidente. Los esporos quedan en libertad por la reabsorción de la membrana de la célula madre. Germinan en muy poco tiempo; su membrana externa se rompe, sale un tubo hialino que se encorva primero en arco luego en hélice.

Haciendo vivir esta bacteria resguardada del aire, se vuelve un agente de fermentación enérgica.

Espirilo del mucus nasal.—Weibel considera como frecuente, en el mucus nasal de las personas sanas, una especie de espirilo del cual obtuvo fácilmente cultivos.

Los filamentos tienen un grosor de 1 μ á 1'5 μ y una longitud que varía de 3 μ á 6 μ. La curvatura es muy variable; se encuentran todos los intermediarios entre los palitos rectos y los artículos arqueados en semicírculo. Los artículos cortos son con frecuencia rectos. Carecen de todo movimiento y generalmente están en pequeños grupos en el mucus, en el cual nunca forman filamentos,

Sobre placas de gelatina, las colonias crecen muy lentamente; forman en cuatro ó cinco días pequeños discos blanquecinos de 0^{mm}, 3 de diámetro, y no licuan la jalea.

En picadura sobre gelatina, se desarrolla á lo largo de la picadura una faja blanca, delicada, que parece un rastro mucoso ó una tela de araña, y nada en la superficie.

Sobre gelosa, el cultivo es más denso, menos transparente; allí se encuentran espirales que tienen hasta treinta y más vueltas.

El caldo se enturbia en algunas horas, á 36°; la pululación jamás es exuberante y alcanza el máximo en tres días.

No se obtiene cultivo sobre patata.

Las formas de involución son numerosas y aparecen fácilmente sobre todo en los cultivos sobre gelatina.

Los cultivos no tienen olor ni muestran ninguna acción patógena sobre los ratones.

Spirillum concentricum Kitasato.—Es una especie saprofita que encontró Kitasato en sangre podrida.

Los elementos son cortas espirales, de dos ó tres vueltas, cuyos extremos son en punta. La altura de una vuelta es de 3'5 μ á 4 μ; el espesor del filamento es próximamente de 0'8 μ. Los movimientos son rápidos. No se han observado esporos.

Las colonias sobre placas de gelatina son pequeños discos redondeados de un gris pálido, que presentan anillos concéntricos que les dan el aspecto de cucardas, de donde se deduce el nombre específico.

En picadura en un tubo de gelatina, el crecimiento se hace fácilmente á la temperalura ordinaria; la superficie se cubre poco á poco de un cultivo filamentoso que penetra en la porción superior de la picadura. La jalea no se licua.

Sobre gelosa, en estría, el cultivo se extiende sobre la superficie y se adhiere de tal modo al medio, que es imposible separar una porción sin levantar una partícula de jalea.

El caldo se enturbia lentamente. En los viejos cultivos, el líquido se aclara y deja depositar un denso sedimento mucoso.

Este espirilo no crece sobre patata.

Los animales de experimentación soportan sin inconvenientes las inoculaciones de cultivos puros, hasta en fuertes dosis.

Spirillum tenue Ehrenberg.—Las células miden de 4 μ á 15 μ de largo y apenas 0'4 μ de ancho; describen de una á cinco vueltas, separadas unas de otras de 2 μ á 3 μ. Los movimientos son vivos; Künstler describió un grupo de cirros en cada extremo. Es una especie de las aguas estancadas y de los líquidos de maceración, animal ó vegetal.

Spirillum undula Müller.—Los filamentos describen de una y media á cuatro, y algunas veces seis vueltas de espiral; tienen de 8 μ á 16 μ de largo por 1 μ á 1'5 μ de ancho. Los movimientos son muy rápidos.

Esta especie se encuentra en todos los lí-

quidos de putrefacción, en donde forma á menudo grandes copos mucosos.

SPIRILLUM VOLUTANS Ehrenberg.—Las células tienen de 25 μ á 30 μ de largo y 1'5 μ á 2 μ de ancho. Los extremos son algo adelgazados y redondeados; cada uno va provisto de un cirro. Los movimientos son rápidos. El protoplasma encierra numerosos corpúsculos obscuros, que ciertos autores creen granulaciones de azufre. La espiral es de dos ó cuatro vueltas á lo sumo; cada una de ellas tiene de 9 μ á 12 μ de altura y 6 μ de ancha.

Se encuentra en el agua estancada, con frecuencia en compañía de las *beggiatoa*, á cuyo ciclo de evolución pertenecería según ciertos autores.

SPIRILLUM LEUCOMELÆNUM Perty.—Los espirilos tienen dos ó tres vueltas; están formados por la reunión de cortos artículos de contenido negro obscuro, rodeados de una aureola clara. Se les encuentra en el agua corrompida.

SPIRILLUM RUBRUM Esmarch.—Fué encontrado por Esmarch, sobre un cadáver de ratón muerto de septicemia y que se pudría desde tres meses. Los órganos internos se reducen á una masa homogénea, grumosa, de color rojo pálido. Haciendo cultivos sobre placas, obtuvo colonias de un espirilo de o'8 μ de grosor, que describían una ó dos vueltas. Esta bacteria se cultiva muy bien en todos los medios; no licua la gelatina. En los líquidos, los elementos se alargan mucho; algunos tienen hasta treinta y cuarenta vueltas. Los cortos espirilos tienen un movimiento muy vivo; los largos son inmóviles ó presentan un lento movimiento de ondulación.

Sobre placas de gelatina las colonias tardan mucho tiempo en aparecer y crecen con lentitud; no son casi visibles antes de ocho días, y al cabo de catorce son grandes como cabezas de alfiler. Tienen un tinte rosado pálido.

En picadura en la gelatina, se forma un delgado cultivo coloreado de rojo vinoso. La coloración es más fuerte en la picadura, ó cuando se hace el cultivo resguardado del aire. La falta completa de oxígeno no perjudica, al parecer, la vegetación.

Sobre gelosa ó sobre suero, en estría, se forma una faja pardusca, luego roja rosada, bastante espesa, pero que se extiende muy poco á cada lado de la estría. Cuando los tubos contienen agua de condensación, se encuentran espirilos mucho mayores que los del cultivo.

El desarrollo se hace muy lentamente sobre patata; se obtienen pequeñas colonias de un color rojo obscuro.

El caldo se enturbia en un día á 37°; encierra espirilos muy grandes.

Esta bacteria no tiene ninguna acción patógena.

SPIRILLUM ROSEUM.—Macé observó, en un tubo de gelosa sembrado con pus blenorrágico, el desarrollo de una colonia de un hermoso color rosa rojo, que se muestra formado de cortos espirilos. ¿Esta bacteria viene de una contaminación por el aire, ó es una de las numerosas especies que habitan el canal de la uretra, hasta en estado normal? Esta pregunta se dirigió Macé sin poderla resolver.

Los espirilos son muy cortos. Los de los cultivos sobre medios sólidos tienen por término medio 2 μ de largo por o'6 μ de ancho; son pequeños palitos encorvados en arco, con extremos redondeados, aislados ó rara vez unidos por pares. Los que viven en el caldo son algo mayores, alcanzan 4'5 μ por o'8 μ; tienen la forma de una S oblonga y aplanada. Es raro que haya elementos más largos. Los movimientos son vivos sin ser muy extensos. Algunos artículos encierran esporos redondos ó un poco ovoideos. Se forman de preferencia en los elementos cortos casi rectos; en un artículo que mide 2'4 μ por o'6 μ el esporo mide o'6 μ por o'8 μ.

La gelatina no se licua, y en ella se forman colonias bastante espesas, de color rojo casi violeta, con superficie granulosa.

Sobre gelosa, el cultivo es más espeso; se tiñe el medio de rojo más vivo, la superficie es brillante y los bordes limpios. Parecen grandes gotas de cera caídas sobre jalea.

Sobre caldo, se obtiene, después de un tiempo bastante largo, un velo rosado obscuro, delgado, con superficie brillante, como verrugosa. Los bordes, más obscuros que el resto, son muy adherentes al vaso. El líquido

permanece claro; el velo se rompe en grandes girones y cae al fondo.

Los cultivos sobre patata van muy bien en estufa; consisten en fajas chagrinadas de color rojo vivo.

La materia colorante es muy soluble en el alcohol; da un licor de un color rojo algo amarillo, tiñe dicha tela de cebolla.

Estos cultivos no tienen al parecer ninguna acción patógena.

SPIRILLUM RUFUM Perty.—Fué encontrado en aguas de pozo; formaba en la superficie de las paredes de los vasos que la contenían, manchas mucosas, de un color rojo rosado ó de un rojo sanguíneo. Son largos elementos de 8 á 16 μ, ligeramente rojizos, muy móviles, que describen de una y media á cuatro vueltas de espiral. Los filamentos jamás se segmentan en artículos.

§ 2

Género «Leptothrix.»

Son bacterias en larguísimos filamentos, no ramificados, rectos, curvos ú ondulados, rodeados de una delgada vaina de jalea y parecen siempre inmóviles. En un momento dado, estos elementos se segmentan en artículos más ó menos cortos que se aislan y pueden dar, en forma de media luna, filamentos semejantes á los primeros.

El género *leptothrix* quizás no debe distinguirse del género *bacillus*. Muchos bacilos, en efecto, tienen la propiedad, en condiciones particulares del medio, de crecer en largos filamentos, cuya composición en palitos sólo es visible cuando se les trata por reactivos coagulantes ó colorantes. Ahora bien, esto es lo que sucede al único *leptothrix* un poco conocido, el de la boca. Varias especies de bacterias, que habitan normalmente en la cavidad bucal, pueden tal vez contribuir, á causa de las condiciones del medio, á dar matas de largos filamentos; entonces se explicaría fácilmente la divergencia de los caracteres expuestos por diversos autores, sobre todo la diferencia de las dimensiones.

LEPTOTHRIX BUCCALIS Ch. Robin.—Son largos filamentos que miden de 0'8 á 1 μ de ancho con una longitud muy variable de 15 á 100 μ y por término medio de 30 á 50 μ, rodeados á menudo de una delgada vaina de jalea. Forman á menudo masas filamentosas densas, ó están reunidos en forma de haz. El contenido, que es hialino, carece de granulaciones; se colorea en determinados sitios de azul por el yodo, lo cual indica la presencia de materia amilácea. Cuando los filamentos alcanzan cierta edad, se dividen en artículos que se aíslan y vegetan independientes. Esta segmentación pronto es visible sobre las preparaciones teñidas por los colores de anilina; quizás representa el estado normal. Algunos filamentos pueden presentar ondulaciones bastante regulares, que recuerdan los largos espirilos; Zopf refiere, aunque sin prueba, el *spirillum buccale* á esta especie de *leptothrix*.

Estas formas son muy comunes en la boca; se encuentran con abundancia en la secreción lingual, en la saliva, en la materia untosa que se encuentra sobre los dientes, en la que llena las cavidades de los dientes cariados, en los corpúsculos de las amígdalas, en donde pueden vegetar con abundancia y formar eflorescencias blancas; á veces se observan en el contenido estomacal, á donde son arrastradas por la saliva ó los alimentos, pero en él no crecen á causa de la acidez del medio.

Se les encuentra en el hombre y los carnívoros, pero rara vez en los herbívoros. Deben jugar un gran papel en la formación del sarro dental, papel que ya había entrevisto Mandl; le constituyen fijándose á los dientes y determinando enderredor de ellos la precipitación de las sales calcáreas de la saliva. Miller obtuvo algunos muy fáciles de conocer del sarro dental de momias egipcias, quitando las

sales de cal por medio de ácidos diluídos. Estos *leptothrix* son también una de las grandes causas de la caries de los dientes. Cuando la capa de esmalte desaparece, pueden penetrar progresivamente en los canalículos dentales y minar poco á poco el marfil.

Los cultivos puros son poco conocidos; Vignal dice haberlos obtenido de saliva y les asigna los caracteres que siguen:

Sobre placas de gelatina, el *leptothrix buccalis* da al cabo de tres ó cuatro días, una ligera prominencia redondeada, de color blanco pardo, enderredor de la cual se forma más tarde un borde festoneado, semitransparente. Este borde se extiende al envejecer y la gelatina se reblandece bajo la colonia.

En picadura en un tubo de gelatina, la licuación empieza al segundo día; se forma una pequeña cúpula llena de un líquido claro y cubierta de una membrana blanca, irisada. El tubo continúa licuándose y muestra al fondo un depósito filamentoso blanco.

Sobre gelosa, á 37°, el cultivo cubre muy á prisa toda la superficie de la jalea; allí da una membrana plegada de color blanco amarillento.

Las colonias sobre patata son manchas blancas, planas. El caldo se enturbia ligeramente y deja depositar un ligero sedimento, pero jamás muestra velo.

Miller describió, bajo el nombre de *leptothrix gigantea*, largos filamentos, mucho más espesos que los del *leptothrix buccalis*, que encontró en el sarro dental de muchos herbívoros, del perro, del gato y del cerdo.

Otros organismos descritos como *leptothrix*, son todavía menos conocidos; la mayor parte son ciertamente algas más elevadas.

§ 3

Género «Cladothrix.»

Este género fué creado por bacterias filamentosas cuyos elementos están regularmente apegados, de modo que simulan una ramificación, á veces en dicotomía bastante regular. Estos filamentos se segmentan luego en artículos más ó menos largos, que se aislan y forman en su interior cuerpos esféricos que probablemente son verdaderos esporos.

CLADOTHRIX DICHOTOMA Cohn.—Es una especie que abunda en las aguas dulces ó salobres, corrientes ó estancadas. Se desarrolla mejor en las aguas estancadas ricas en materias orgánicas, en donde forma á menudo masas filamentosas blanquecinas, fácilmente visibles. Los copos están formados por el entrecruzamiento de largos filamentos inmóviles, anchos proximamente de 0'4 μ y mucho más largos; algunos pueden alcanzar un milímetro y más. El contenido es completamente hialino. Estos filamentos son rectos ó sinuosos, á veces ondulados con bastante regularidad en una cierta extensión (fig. 21). Según las observaciones de Macé se produce una verdadera ramificación. Sobre el lado de un filamento aparece una pequeña hernia que es el indicio de un ramo lateral; el brote crece y da un corto prolongamiento cilíndrico, de igual anchura que el filamento madre, y que permanece exactamente perpendicular á él mientras no ha alcanzado una longitud bastante grande. Sobre un mismo filamento, es fácil observar toda una serie de ramas laterales en diversos estados de desarrollo y de seguir así una parte de las transformaciones, desde el simple brote lateral hasta una rama de 4 ó 5 μ de larga. Parece que no hay regla alguna para la disposición sobre el filamento de las ramas secundarias; unas veces se observan en un solo lado, otras veces en ambos lados alternando con irregularidad. Al crecer estas ramas se aproximan casi siempre al filamento madre con el cual forman un ángulo muy agudo. Entonces es cuando se separan en la base por un tabique y parece que están simplemente apegadas entre sí como muestra la figura 21, formando así una falsa ramifi-

cación. En un momento dado, los filamentos se separan en artículos que pueden aislarse y son entonces muy móviles. Estos artículos, de longitud variable, están á menudo encorvados, á veces regularmente ondulados, lo que hace compararles á espirilos. Se reunen á veces en pequeñas zoogleas por medio de una materia mucosa; esta fase está evidentemente incluída entre las formas poco conocidas, descritas bajo el nombre de *myconostoc gregarium*. Estos artículos, y á veces también los filamentos, producen en su interior pequeños cuerpos esféricos todavía mal conocidos que son probablemente verdaderos esporos, los cuales no germinan, según parece, en el interior del filamento madre.

En los cultivos sobre placas de aguas de procedencias distintas, las colonias son tardías, empiezan á aparecer hacia el cuarto ó quinto día, como pequeños puntos amarillentos, rodeados de una aureola parda que se pierde en la gelatina ambiente. Esta aureola que puede alcanzar 1 ó 2 milímetros, les da á conocer fácilmente. La colonia no se desarrolla sino cuando llega á la superficie de la jalea; en ella forma un pequeño botón pardusco, cubierto á veces por una eflorescencia blanca. La aureola parda ha crecido un poco obscureciendo su color. Se produce una depresión enderredor de la colonia y la gelatina se licua lentamente.

En picadura en la gelatina, el desarrollo es largo; se forma un tenue cultivo gris que licua la gelatina. El cultivo cae al fondo del líquido que permaneció claro y se desarrolla entonces en grandes copos, como en el caldo. La jalea toma rápidamente un tinte pardo; el líquido se colorea de pardo obscuro y á veces negro.

Sobre gelosa á 35°, se observa muy pronto la formación de una espesa piel, brillante, muy adherente al substrato, de tal suerte, que al quitar una partícula es preciso llevarse un pedazo de jalea. Estas colonias tienen una gran tendencia á formar círculos; hasta pueden presentar pliegues regularmente convergentes hacia el centro; la misma tendencia se observa en los cultivos en caldo. A menudo estas membranas se revisten de una eflorescencia gris, seca, muy friable, formada de cortos artículos ó de cuerpos redondos señalados. La jalea tiene un color pardo muy intenso.

En el caldo se forman pequeños copos esféricos y blanquecinos, cuya disposición radiaba es evidente; estos copos crecen pronto en estufa y pueden alcanzar más de 1 centímetro de diámetro. El líquido permanece claro y toma un tinte pardo.

Todos los cultivos despiden un olor de moho muy intenso.

El *cladothrix dichotoma* parece ser una bacteria saprofita inofensiva para el hombre y los animales, los cuales absorben grandes cantidades con el agua de bebida. Determina en algunos casos la precipitación del hierro que contiene este líquido, bajo la forma de óxido de hierro que se fija á la membrana y le tiñe de color pardo obscuro. Es muy probable que se debe atribuir á esta especie una gran parte en la formación de las concreciones calcáreas, que se depositan en los tubos de conducción de ciertas aguas y que pueden disminuir considerablemente el diámetro. La bacteria se adhiere á las paredes y determina enderredor de sus larguísimos filamentos la precipitación de las sales calcáreas del agua, del mismo modo que el *leptothrix buccalis* ocasiona la precipitación de las sales de la cal de la saliva y la formación del sarro dental.

El *cladothrix Forsteri* de Cohn, que fué encontrado en pequeñas concreciones blancas, untosas, del canal lacrimal, se conoce muy poco para que se le pueda admitir como especie distinta, además de que no defiere por su aspecto del *cladothrix dichotoma*.

CAPÍTULO XVI

BEGIATOÁCEAS

Esta familia encierra especies que difieren considerablemente de las demás bacterias en su aspecto y los diversos procesos de su desarrollo. Se parecen mejor á ciertos algas de organización más elevada, de las cuales representan, por decirlo así, tipos degradados. Las *beggiatoa* son muy análogas á las *oscilariadas*. La diferencia más importante es la falta en las primeras del pigmento azulado, dicroico, la *ficocianina*, que se encuentra constantemente en las otras, sola ó asociada á la clorófila, de la cual carecen también siempre las *beggiatoa*.

Al contrario de lo que se observa en las otras bacterias, los filamentos dejan distinguir una parte anterior y otra posterior. Esta última se fija á menudo á un soporte, mientras que la otra flota libremente en el agua.

El protoplasma de las células, en ciertas condiciones que parecen normales para estos séres, encierra granulaciones de azufre, obscuras, no cristalinas, generalmente muy solubles en el éter, el cloroformo y el sulfuro de carbono. Cohn, que las encontró en muchas especies que habitaban las aguas sulfurosas, las había ya atribuído á la oxidación del hidrógeno sulfurado. Se pensó también que este hidrógeno sulfurado era producido por su acción sobre los sulfatos, contenidos en gran abundancia en estas aguas. Etard y Olivier haciendo vivir algunas *beggiatoa* en agua que contenían sulfato de cal, vieron como se adornaban de azufre, mientras que se despojaban completamente de él al transportarlas á líquidos privados de sulfatos. Para todos, las *beggiatoa*, muy abundantes en las aguas termales sulfurosas, en donde forman masas blancas, filamentosas ó mucosas, conocidas con los nombres de *glairina* ó *baregina*, producen hidrógeno sulfurado, reduciendo los sulfatos de las aguas y luego oxidan este hidrógeno sulfurado para fijar el azufre en su protoplasma. Experimentos recientes de Winogradsky han probado que estos dos fenómenos, en apariencia sucesivos, son absolutamente distintos uno de otro y que solamente el último debe referirse á las *beggiatoa*. Estas *beggiatoa* se cargan rápida-

mente de gránulos de azufre en un agua que contenga hidrógeno sulfurado. En el agua pura, el azufre desaparece consumido poco á poco; nunca se reforma y la planta muere. Si por el contrario, en este último líquido se encuentran bacterias de putrefacción, los fenómenos son completamente distintos. El azufre no desaparece de las células, ó se reforma muy aprisa, las *beggiatoa* pueden crecer y prosperar. La primera fase del fenómeno, la producción de hidrógeno sulfurado á expensas de los sulfatos, es enteramente independiente de las *beggiatoa;* la reacción la operan ciertas bacterias, quizás anerobias, y solamente después pueden intervenir las *beggiatoa,* oxidando este hidrógeno sulfurado, rechazando al ácido sulfúrico y fijando el azufre en su protoplasma, en donde desempeña probablemente el papel de material de reserva. El papel atribuído á estas plantas en la formación de las aguas sulfurosas naturales debe pues referirse á otras especies; ellas disminuyen, por el contrario, el contenido de principios activos, cuando su acción destructiva no es compensada ó sobrepujada por la acsión concomitante de otras bacterias. Esta acción no es más que secundaria para estas últimas especies, que no pueden de ningún modo atacar el sulfato de cal; el hidrógeno naciente que producen, es el verdadero agente activo que transforma las materias nitrogenadas ó hidrocarbonadas de que se alimentan. Necesitan, pues, al mismo tiempo materia orgánica, que puede consistir en restos de *beggiatoa*. Por esto en los cultivos impuros, hechos en agua cargada de sulfato de cal, puede aparecer azufre en las células vivas, que prosperan; las bacterias de putrefacción atacan las células muertas y suministran á sus expensas hidrógeno sulfurado que sirve á las partes que permanecieron vivas. De lo que precede, resulta claramente que las *beggiatoa* tienen una absoluta necesidad de hidrógeno sulfurado para vivir, en las condiciones de existencia que se les conoce al menos, todavía no se ha podido descubrir un medio favorable á su desarrollo que carezca de ellas.

Por esto esas plantas son abundantes en las aguas sulfurosas naturales y también en las aguas muy ricas en substancias orgánicas, en donde numerosos organismos de putrefacción producen, como residuo de su fermentación, hidrógeno naciente que reduce los sulfatos contenidos en el agua y forma hidrógeno sulfurado. Viven muy mal en las aguas puras. Se debe más bien considerar su presencia como un indicio de una impureza primitiva de las aguas, que de la mala calidad del agua ocasionada por ellas; antes bien contribuyen cuando son solas á purificarla.

El desarrollo difiere enteramente del que hasta ahora hemos observado. Los filamentos primero libres y móviles, luego sujetos é inmóviles, más ó menos largos, rectos ó sinuosos, á veces en forma de espiral, pueden segmentarse en artículos de tamaño variable. Se producen, en ciertos momentos, formas redondeadas que ningún carácter puede, no obstante, hacer considerar como esporos.

Esta familia comprende los dos géneros siguientes:

1.er género: *Beggiatoa*; los filamentos son libres ó fijos por un extremo; están rodeados de una delgada vaina de jalea; el protoplasma encierra numerosos gránulos de azufre.

2.° género: *Crenothrix;* los filamentos están normalmente sujetos por un extremo; están rodeados de una espesa vaina de jalea; el protoplasma no contiene granulos de azufre.

§ 1

Género «Beggiatoa»

Son plantas que se encuentran en gran cantidad en las aguas sulfurosas naturales y que se creyó por mucho tiempo que desempeñaban un gran papel en la producción del hidrógeno sulfurado y de los sulfuros que les dan sus propiedades. Forman copos, blancos ó amarillentos comúnmente, poco densos, que flotan en el líquido algo viscoso; á estas

producciones se aplicaron los nombres de *glarina* y *baregina*. Se encuentran á veces con gran abundancia en ciertas aguas dulces ó en las salobres, en donde forman revestimientos blanquecinos, á menudo de gran extensión. En vista de las necesidades particulares de la existencia de estos seres, estas aguas deben contener materias orgánicas en vías de putrefacción y grandes proporciones de hidrógeno sulfurado que se encuentra siempre en estas condiciones; por esto la fauna y la flora son poco ricas, lo cual debe atribuirse al agua más bien que á las *beggiatoa*.

El desarrollo es muy particular. Zopf refiere á un mismo tipo toda una serie de formas, cuyo valor y procedencia no es todavía posible fijar de un modo exacto, por la razón de que jamás se han observado cultivos puros. La forma de filamento parece ser la típica. Estos filamentos que se segmentan rápidamente en artículos cilíndricos de longitud variable, son ora libres y móviles en el agua, presentando un movimiento de oscilación que recuerda el de las oscilárieas, ora sujetas á un soporte inmergido, plantas vivas ó cuerpos inertes. La base, en este último caso, difiere sensiblemente del extremo libre por su anchura que es menor. Los filamentos un poco largos son á menudo sinuosos y á veces arrollados en espirales regulares. Esas partes en forma de espiral pueden separarse y flotar libremente en el líquido; tienen el aspecto de grandes *espirilos* y ofrecen en cada extremo uno ó varios cirros vibrátiles que les imprimen un rápido movimiento; estas son las formas designadas con el nombre de *ophidomonas*. El contenido de estos filamentos en vías de prosperidad, es un protoplasma granuloso, pardusco, que encierra corpúsculos de azufre á menudo en gran proporción. En las células vivas el azufre no está nunca en cristales, pero sí en pequeñas masas irregularmente redondeadas; cuando mueren las células, puede tomar el estado cristalino y formar largos prismas ú octaedros rómbicos. A 70°, estos gránulos se vuelven fluidos, oleaginosos, y entonces pueden confluir en masas mayores. El contenido celular es con frecuencia incoloro; en la *beggiatoa roseo-persicina* está teñido de rosa por un pigmento particular, la *bacterio-purpurina*. Cuando los filamentos, rectos ó espirales, libres ó sujetos, llegan á cierta talla, se dividen en segmentos cortos, discoides, en los cuales se producen, por pares ó por tetradas, formas redondas que describió Zopf como *coccus*. Estas esferas podrían vivir en libertad en el agua, y transformarse en filamentos de una elongación directa; muchos organismos, considerados como pertenecientes al género *monas*, formarían parte de esta fase del ciclo de desarrollo de las *beggiatoa*.

Beggiatoa alba Vaucher.—Es una de las especies más comunes. Se encuentra en las aguas sulfurosas naturales, frías ó calientes, en todas las aguas impuras estancadas, á menudo en los pozos ó las cisternas. Forma copos blancos, mucosos, que pueden extenderse en anchas manchas.

Los filamentos, de un color blanco sucio, tienen de 3 μ á 4 μ de anchura. Se les encuentra libres en el líquido, ó pegados á soportes cualesquiera (fig. 159). Están encorvados en arcos sinuosos ó espirales. El extremo libre es redondeado y lo son los dos cuando el artículo nada en el agua. Encierran gruesas granulaciones de azufre, que son mucho más numerosas en la parte terminal. La segmentación se ve fácilmente; los artículos tienen próximamente una longitud doble de la anchura.

La forma descrita como *spirillum volutans*, forma tal vez parte del ciclo de desarrollo de esta especie.

Beggiatoa nivea Rabenhorst.—Se encuentra en las aguas sulfurosas. Los filamentos son mucho más delgados, de 1 μ á 1'5 μ de ancho, é inmediatamente articulados; forman copos poco densos de color blanco de creta.

Beggiatoa arachnoidea Agardh.—Los filamentos son gruesos, de 5 μ á 6'6 μ, bien articulados y muy móviles. Están reunidos en masas filamentosas semejantes á una telaraña.

Esta especie es común en las aguas estancadas y en los manantiales sulfurosos.

Beggiatoa leptomitiformis Trévisan.—Los filamentos son gruesos de 1'8 μ á 2'6 μ y poco distintamente articulados. Forman anchas manchas delgadas de color blanco mate, mucosas.

Se la encuentra comúnmente en las aguas sulfurosas y las aguas estancadas.

BEGGIATOA MIRABILIS Cohn.—Es una especie común en el agua de mar, entre las algas podridas.

Los filamentos son móviles, distintamente articulados, y miden hasta 16 μ de espesor. Forman copos espesos y densos, mucosos, de color blanco de nieve.

BEGGIATOA ROSEO-PERSICINA Zopf.—La particularidad más interesante de esta hermosa especie es la producción de una materia colorante rosada, que Ray-Lankaster aisló, denominándola *bacteriopurpurina*. Su matiz varía mucho según la edad de los elementos en que se encuentra. El pigmento, en las células jóvenes y en plena actividad vital, es rosa, á veces ligeramente violado. Con la edad la coloración se vuelve violeta; cuando la célula muere toma un color pardo. La materia colorante es insoluble en el agua, el alcohol, el cloroformo, el amoníaco, los ácidos; el alcohol hirviente y el cloroformo le dan un matiz pardo anaranjado. Da, al espectroscopo, fajas de absorción especiales; una ancha faja en el amarillo cerca de la raya D; dos débiles en el verde cerca de la E y *b*; una débil en el azul cerca de la F; luego á partir de G, un obscurecimiento en toda la parte más refrangible del espectro. La alizarina y la purpurina se comportan de un modo muy semejante. No se conoce todavía nada del modo de formarse el pigmento. El protoplasma contiene también numerosas granulaciones de azufre.

Se la encuentra bajo la forma de largos filamentos de 3 μ de anchura próximamente, rectos ó sinuosos, sujetos ó libres en el líquido; algunos de estos últimos son regularmente espirales y muy móviles; fueron designados con el nombre de *ophidomonas sanguinea*, antes que Zopf hubiese señalado sus caracteres con la *beggiatoa roseo-persicina*. Los filamentos se segmentan y producen elementos esféricos, que son puestos en libertad en el líquido. Estas formas redondas se multiplican por división y dan origen á colonias de aspecto muy particular. Consisten primero en pequeñas masas de cocos reunidos por materia gelatinosa hialina; la forma es redondeada ú ovalada, bastante regular. Luego la parte central se ahueca y los elementos se amontonan en la periferia; se observan masas más gruesas de delgada envoltura, llenas de un líquido claro. En esta especie de cápsula periférica, constituída por cocos irregulares, se forman vacíos irregulares, lagunas, que crecen de tal suerte que finalmente la envoltura es una red de anchas mallas irregulares, limitadas por tractos bastante espesos. Los elementos son entonces probablemente puestos en libertad en el agua; consisten en pequeños cuerpos esféricos, muy móviles, provistos de un largo cirro vibrátil, aislados ó reunidos en pares, con el protoplasma teñido de color de rosa. Se alargan y toman la forma de cortos cilindros ó de un óvalo lanceolado. Las *monas Warmingii*, *monas Okeni*, *monas vinosa*, *rhabdomonas rosea*, probablemente no son sino estos elementos encontrados en el agua. Finalmente se fijan y crecen en filamentos.

Esta especie es muy común en el agua dulce y el agua de mar. Se la encuentra principalmente en las aguas estancadas, en donde forma, en la superficie de los objetos inmergidos, manchas de color de rosa algo violado. Puede colorear de rojo ó de violeta grandes extensiones de agua; son entonces formas redondas que se encuentran en gran número en la superficie.

La del abadejo, conocido con el nombre de *abadejo rojo*, fué referida por Heckel á la *beggiatoa roseo-persicina*, que se encuentra en abundancia bajo la forma de filamentos ó de elementos redondos, á veces en tetradas *(sarcina morrhuæ)*, en la conserva que toma entonces un color rosado algo obscuro. Este abadejo alterado tiene propiedades tóxicas bastante intensas debidas probablemente á tomainas. La presencia de la *beggiatoa roseo-persicina* no es sino secundaria. Otros organismos de putrefacción deben prepararle el medio, como hemos visto en otras *beggiatoa* y á ellas principalmente debiera referirse la producción de compuestos tóxicos.

§ 2

Género «Crenothrix»

Los *crenothrix* difieren principalmente de las *beggiatoa* por la presencia constante de una envoltura en derredor de los artículos procedentes de la segmentación de los filamentos, envoltura formada por la membrana del filamento primitivo. Esta vaina puede permanecer delgada y compacta, á menudo se gelifica más ó menos. El protoplasma no encierra granulaciones de azufre, pero las membranas densas ó gelificadas tienen una verdadera afinidad para el óxido de hierro. Cuando el agua en que viven estas plantas contiene dicho compuesto, le fijan por decirlo así en su membrana en donde se combina probablemente con la celulosa. De aquí la coloración amarilla de orín, pardusca, ó pardo verdosa, muy visible cuando los elementos están reunidos en pequeñas masas.

Crenothrix Kühniana Rabenhorst.—Esta especie es muy abundante en las aguas dulces, sobre todo en las que son algo ricas en materias orgánicas ó que contienen proporciones notables de hierro. Prefiere sin embargo las aguas estancadas ó las que discurren lentamente.

Se puede presentar bajo diferentes formas cuyo valor y relaciones respectivas distan mucho de estar completamente dilucidados. Nada se ha determinado todavía de las condiciones que deben presidir la aparición de tal ó cual de las diversas fases del ciclo que puede recorrer la especie durante su completo desarrollo.

La forma típica es la filamentosa. Son (fig. 160) filamentos rectos ó sinuosos, sujetos por un extremo á un soporte inmergido, ó reunidos en copos cuajados. El extremo posterior se distingue siempre fácilmente del anterior; su anchura es siempre menor; mide comúnmente de 1'5 μ á 2 μ mientras que la parte terminal mide de 6 á 9 μ. La longitud de los filamentos es variable; algunos alcanzan hasta 1 centímetro.

El contenido de estos filamentos se segmenta y forma gran número de artículos, que se revisten de una membrana propia y están incluídos en la misma membrana del filamento madre, gelificada ó no, que le forma una especie de vaina. La forma y las dimensiones de estos segmentos son muy variables. Ora son cortos cilindros, con extremos redondeados; ora cubos regulares; ora, en fin, masas esféricas ó discos aplanados (fig. 160). Estos segmentos pueden salir uno á uno de la vaina formada por la membrana de la célula madre y aislarse en el agua. Los segmentos discoidales sufren á menudo otras modificaciones en el interior mismo del filamento madre. Cada uno de ellos da (fig. 160 *a*), por medio de una división en cruz, una tetrada de elementos redondos, que se distinguen de los artículos esféricos ya citados por un grosor mucho menor; no suelen tener más que de 1 á 2 μ de diámetro, mientras que los otros miden 5 μ. Estas células puestas en libertad en el líquido, son al principio ligeramente móviles. Podrían crecer directamente en filamentos ó dar por división elementos semejantes, que entonces por gelificación de las membranas, pueden producir pequeñas zoogleas mucosas redondeadas, que miden hasta 1 centímetro. Los cocos de estas zoogleas dan en un momento dado tenues filamentos que permanecen á menudo unidos en forma de pincel. Estos mismos cocos pueden también germinar en el interior del filamento que les produjo sobre el cual se encuentran entonces masas radiantes de cortos palitos. Todos estos elementos diversos parecen en definitiva volver á la forma filamentosa primitiva, considerada como la forma típica de la especie.

El *crenothrix Kühniana* se observa con

mucha frecuencia en las aguas dulces. En los pozos, las cisternas ó los recipientes en donde se amasan las aguas, puede formar masas espesas, coloreadas de pardo ó de verde por el óxido de hierro que se fija en la membrana ó las envolturas gelificadas de las zoogleas. El agua toma entonces un color rosado, un olor desagradable y un mal gusto; puede volverse completamente impropia para los usos domésticos, sobre todo la alimentación. Se produce en los recipientes ó los canales de alimentación de los grandes centros, importantísimas alteraciones de masas considerables de líquido, debidas á la proliferación invasora de esta bacteria. La mayor parte de los fenómenos observados deben evidentemente atribuirse á especies de putrefacción que pululan á expensas de los elementos muertos de *crenothrix Kühniana*.

Recientemente Künsther afirmó que el *crenothrix Kühniana* desempeñaba un papel potogénico importante en el desarrollo de una fuerte epidemia de fiebre tifoidea observada en Burdeos. Nada autoriza semejante hipótesis, que no se apoya por lo demás en ningún hecho de experiencia.

CAPÍTULO XVII

ESTUDIO ESPECIAL DE ALGUNOS MEDIOS

§ 1

Bacterias del aire

El aire encierra gran número de bacterias. Se obtiene una prueba fácil de ello exponiendo durante poco tiempo al aire medios debidamente esterilizados; la contaminación se hace á menudo en grandes proporciones. Desgraciadamente no faltan ejemplos en las investigaciones bacteriológicas de cada día. Por lo demás es fácil comprender como seres de talla tan mínima, y con mayor razón sus esporos, se encuentran con profusión en la naturaleza, esparciéndose y renovándose constantemente en la atmósfera.

Pasteur hizo las primeras investigaciones precisas respecto á las bacterias del aire, y expuso sus resultados en la célebre campaña que hizo contra la generación espontánea. Para recoger los gérmenes del aire, hacía pasar lentamente un volumen determinado de él, por medio de un aspirador, por una borra bastante densa de algodón-pólvora, situado en un tubo de vidrio en comunicación con el aspirador. Terminada la operación, disolvía la borra en una mezcla de alcohol y éter. Manteniendo luego el líquido en reposo, dejaba depositar un sedimento más ó menos abundante formado por todos los cuerpos en suspensión en la atmósfera. Entre ellos había polvos minerales, restos vegetales ó animales, esporos de hongos y finalmente bacterias. Pero el estudio de estos seres, sobre todo los últimos, se hacía difícil á causa del mal estado en que se obtuvieron; á menudo hasta era imposible distinguirlos en la mezcla compleja que se tenía que examinar. En fin, todo había muerto bajo la acción tóxica del reactivo; no podía esperarse el menor cultivo.

El empleo de los *aeroscopios*, preconizados por Pouchet, y perfeccionados por Miquel, no da resultados muy superiores. El principio consiste en proyectar una corriente de aire, obtenido por medio de un aspirador, sobre una lámina de vidrio embadurnada de glicerina. El líquido viscoso retiene los cuerpos en suspensión, que permanecen aglutinados á la lámina; entonces se examina la preparación al microscopio. Este método puede servir ventajosamente para fijar los objetos de cierto volumen en suspensión en el aire,

las partículas minerales, las algas, los espolos de hongos por ejemplo; pero es del todo inadmisible para el estudio de las bacterias, que no pueden distinguirse.

Los procedimientos que han de buscarse son aquellos que permitan aislar las bacterias y obtener los caracteres y quizás especificarlos; en esto consisten los diversos métodos de cultivo empleados para estudiar el desarrollo de estos seres, métodos que se modifican y adaptan á las necesidades especiales.

Pasteur fué el primero que tuvo la idea de hacer desarrollar, en líquidos nutritivos, las bacterias, de un volumen determinado de aire. Su procedimiento, que también podía servir para una numeración aproximada de los gérmenes del aire, era el siguiente. Llenaba de líquido nutritivo matraces de cuello adelgazado, los calentaba hasta la viva ebullición del contenido y los cerraba al soplete. En estos matraces se forma un vacío. Rompiendo su punta el aire entra en ellos con violencia arrastrando el polvo en suspensión. Los vasos cerrados á la llama se ponen en la estufa á 30°. La vegetación es más ó menos abundante, según la cantidad de gérmenes que contenía el volumen de aire introducido, lo cual puede evaluarse fácilmente, pero sólo de un modo aproximado. Puede suceder que entre los matraces de experimentación haya algunos que permanecen intactos, cuyo número variará necesariamente según el grado de pureza del aire; es muy mínimo en los puntos poblados, en donde la atmósfera es muy rica en bacterias, mientras que puede ser mucho mayor en el campo, en las grandes alturas, donde el aire es mucho más puro.

Este método fué muy perfeccionado por Miquel, en las interesantes investigaciones que hace en el observatorio de Montsouris. Obtuvo excelentes resultados protegiendo el fraccionamiento de los cultivos, lo cual forma la base de su modo de operar. Miquel hacía barbotar un volumen conocido de aire, por medio de un aspirador cualquiera, en 30 centímetros cúbicos de caldo, contenido en un frasco con dos tubos. El aire entra por un líquido que está sumergido hasta el fondo del líquido y puede escapar del vaso por el segundo tubo, provisto de un flojo tapón de algodón en rama. Cuando ha terminado la operación, este último tapón se arroja al líquido con un hilo de platino calentado; se agita suavemente el vaso para repartir bien los gérmenes en la masa. Se distribuye entonces el contenido entre un gran número, 30 ó 40 al menos, de depósitos de caldo. El número de matraces empleados para esta repartición debe conocerse, poco más ó menos, con anterioridad; precisa que una gran proporción no muestre ningún desarrollo. De este modo puede suponerse que cada uno de los matraces alterados no ha recibido más que un solo germen; su número da directamente el de gérmenes contenidos en el volumen de aire que se lavó en el caldo primitivo.

Este método tiene grandes ventajas. Bien conducido, da evidentemente las más aproximadas evaluaciones que obtenerse pueden. El medio es el más conveniente para el rejuvenecimiento de las bacterias; los cultivos pueden conservarse mucho tiempo sin temor de que se alteren ó contaminen. Es evidentemente el procedimiento de análisis bacteriológico del aire que ofrece más rigor científico y que da resultados más seguros. Desgraciadamente su empleo es poco práctico á causa del gran gasto de trabajo que reclama. Cada análisis necesita gran número de matraces, unos cincuenta al menos por término medio; debe disponerse de una gran instalación y de todo un personal para poder hacer así investigaciones seguidas. Además es muy difícil afirmar con certeza que los caldos alterados no encierran más que una especie procedente de un sólo germen, introducido por el fraccionamiento del líquido de lavaje; nada indica, en muchos casos, una mezcla de especies en un medio líquido; entonces precisa recurrir á experimentos verificados en medios sólidos, lo cual aun complica más la operación. En fin, la misma determinación de una especie pura, cosa de alta importancia, es con frecuencia muy difícil según los caracteres de los cultivos en el caldo; las diferencias de los cultivos son poco sensibles y se prestan á confusión.

Desde que se instituyeron los métodos de cultivo sobre medios sólidos, Koch los aplicó

al estudio de las bacterias del aire. Exponía al aire, durante un tiempo determinado, un cristalizador cuyo fondo estaba cubierto de una capa de algunos milímetros de gelatina nutritiva. Cierto número de gérmenes caían á la superficie y daban, después de algunos días, otras tantas colonias. Este modo de operar no puede naturalmente dar más que indicaciones especiales y nunca resultados precisos.

Hesse imaginó un procedimiento más aplicable, basado en los mismos principios. Hace circular lentamente cierto volumen de aire por un vaso cuya pared interna está revestida de una delgada capa de gelatina solidificada. Los gérmenes que están en suspensión, bacterias ú hongos, se apegan á la jalea en la cual dan colonias bien visibles. Su aparato consiste en un gran tubo de vidrio, abierto por ambos extremos, de 70 centímetros de largo por 3'5 de diámetro; un extremo está cerrado por un tapón plano de cauchuc bien tenso, atravesado de un orificio redondo de 1 centímetro próximamente de diámetro; el otro lleva un tapón de cauchuc atravesado por un tubo de vidrio del grosor del dedo meñique, provisto de dos tapones de algodón en rama. Se introduce en el tubo, con una pipeta, 50 centímetros cúbicos de gelatina nutritiva fundida, luego, después de haber cubierto el tapón de cauchuc perforado con otro lleno, se le mete en el esterilizador á vapor donde se le deja una ó dos horas. Durante el enfriamiento, cuando la gelatina se vuelve viscosa, se hace girar suavemente el tubo debajo del caño de una fuente de agua fría, de modo que se obligue á la jalea á formar en su interior una capa continua, en forma de manguito. El tubo, dispuesto horizontalmente sobre un pie con nivel, se pone en comunicación, por medio de tubos de cauchuc con un sistema aspirador. Se quita el primer tapón de cauchuc y el aire penetra suavemente por el orificio del segundo desde que empieza la aspiración. La progresión del aire debe ser muy lenta, para permitir á los corpúsculos en suspensión, depositarse sobre las paredes; á lo sumo se debe hacer pasar un litro de aire cada tres minutos. Terminado el experimento, se tapa el tubo por sus dos extremos y luego se coloca en buenas condiciones de temperatura. Las colonias aparecen al tercer día; se pueden examinar á través del vidrio empleando débiles aumentos. Para recoger las que están lejos de los extremos se ha de romper el tubo á través ó á lo largo. El aparato es embarazoso y difícil de esterilizar; además la superficie de la jalea se deseca pronto y puede hacerse impropia para el desarrollo de ciertas especies. Estas condiciones hacen su uso poco fructuoso.

Frankland trató de utilizar la práctica de dilución en la gelatina del método ordinario de los cultivos sobre placas. Hace pasar un volumen de aire conocido á través de un tubo de vidrio provisto de dos tacos de hebras de vidrio, seco ó humedecido con agua azucarada. Después de la operación, cada taco se introduce en un frasco que contiene gelatina fundida. Se agita suavemente hasta completa disociación de las hebras de vidrio en la gelatina; luego se extiende la jalea por el interior de los frascos, según el procedimiento de Esmarch, ó se la vierte sobre placas de vidrio. La división completa de los tacos es muy difícil de obtener y la mezcla de las hebras de vidrio á la jalea da una masa opalina, en la cual las colonias pequeñas son con frecuencia poco visibles. Los cultivos obtenidos con el primer taco encierran generalmente gran número de colonias; los suministrados por el segundo ofrecen muy pocas.

Petri prefiere como filtro arena blanca fina esterilizada por exposición á una alta temperatura. La arena presenta la gran ventaja sobre las hebras de vidrio, de mezclarse perfectamente con la gelatina y de dividirse fácilmente en la masa. En un tubo de vidrio de 9 centímetros de largo por $1^{cm},5$ á $1^{cm},8$ de ancho, dispone, por medio de cabos de tela metálica, dos masas de arena fina de 3 centímetros de longitud cada uno. Esta porción filtrante forma dos cortos cilindros, que se tocan en la parte media. Los extremos del tubo se cierran con un tapón de algodón en rama y el aparato se esteriliza á una alta temperatura. Para emplearlo se le pone en comunicación con un aspirador después de haber quitado los tapones. La aspiración debe ser poderosa á causa de la resistencia que ofrece

la arena apretada al paso del aire: se la obtiene por medio de una trompa ó de una bomba de aire. Cuando ha terminado el paso del aire, se mezcla la arena con la gelatina fundida, cuya cantidad ha de ser proporcionada á la masa de aire filtrado; la mezcla se vierte sobre placas ó en pequeños cristalizadores planos, provisto de una tapa. El desarrollo de las colonias se hace como en los cultivos sobre placas comunes. Es fácil con un débil aumento, distinguir los granos de arena de las pequeñas colonias.

Este último procedimiento ofrece grandes ventajas respecto al método de Hesse; no deja por esto de presentar inconvenientes. Los cabos de tela de cobre deben ser perfectamente calibrados para que no dejen escapar la arena, luego la aspiración poderosa á la cual hay que recurrir, puede modificar las condiciones en que se encuentra el aire sometido al experimento.

Straus adoptó de un modo acertado el método de barbotaje de Miquel al cultivo sobre medios sólidos. Hacía barbotar cierto volumen de aire á través de gelatina que mantenía fundida á 30°, de la cual se servía para hacer los cultivos.

El aparato de barbotaje se componía de un pequeño frasco cilíndrico, que lleva cerca de su cuello un tubo oblicuo. El gollete está cerrado por un tapón hueco y termina exteriormente en un tubo corto é interiormente en un tubo adelgazado que sumerge hasta el fondo del frasco. El tubo lateral lleva dos tapones de algodón en rama, separados por un estrangulamiento. El aparato cerrado de arriba con algodón en rama se pasa á la estufa seca. En él se vierten 10 centímetros cúbicos de gelatina fundida y una gota de aceite; luego el todo se coloca durante un cuarto de hora, en el autoclava á 115°. Después del enfriamento puede empezar la operación. Mientras dura la gelatina se mantiene fundida á 30° con auxilio de un baño de María, ó más simplemente teniendo el frasco en la mano. El tubo lateral, provisto de sus dos tapones, se pone en comunicación con el aparato aspirador. Se quita el tapón que cierra el tubo exterior y el experimento empieza. El paso del aire á través de la gelatina fundida se hace más ó menos aprisa, á gusto del operador. Gracias á la adición de una gota de aceite, se forma muy poco musgo, cualquiera que sea la celeridad del líquido. Así puede hacerse barbotar en muy poco tiempo una gran cantidad de aire, sin temor á las proyecciones, hasta 50 litros por cuarto de hora. Terminada la operación, se vuelve á tapar el tubo de entrada del aire, se agita bien el aparato para mezclar á la gelatina los gérmenes que se conservaban adheridos á las paredes, se quita el primer tapón del tubo y se hace caer, por medio de un hilo de platino esterelizado, el segundo en la gelatina; el tubo se vuelve á cerrar con su primer tapón. La jalea se vierte entonces sobre placas, ó se extiende por el interior del frasco, según el procedimiento de Esmarch.

El segundo tapón que se hace caer en la gelatina, sólo retiene una pequeña cantidad de gérmenes, como es fácil de ver sembrándole aparte; el barbotaje retiene, pues, los gérmenes del aire en una proporción suficiente.

El tiempo que dura la operación, que es por lo general bastante corta, no influye en nada sobre el número de gérmenes, como lo ha probado la experiencia. Se podría, además en los experimentos de mucha duración, emplear caldo esterilizado que se mantuviese á 0°; la solidificación se obtendría mezclándole con jalea esterilizada.

Comparado con los procedimientos de Petri, de Frankland y sobre todo de Hesse, este método ha dado resultados muy superiores, en el número de colonias bacteriáceas; lo cual se debe probablemente á la disociación de pequeñas masas de bacterias en suspensión en el aire, que no dan cada una más que una sola colonia en los primeros procedimientos.

Bajo el punto de vista de la determinación de las especies, ningún procedimiento ha hecho bien sus pruebas. Hacia este lado debieran tender todos los esfuerzos; este es en efecto el único resultado que puede utilizarse directamente en la práctica.

Las pacientes investigaciones de Miquel condujeron sin embargo al conocimiento de datos de gran interés. Demostraron que el número de bacterias en suspensión en la at-

mósfera variaba más ó menos según las relaciones directas con ciertas circunstancias climatéricas, con la altitud de los lugares, la distancia del suelo al punto en que se toma el aire, la presencia del hombre y sobre todo el desaseo.

Existen variaciones anuales que están probablemente bajo la influencia inmediata de condiciones de estación. El número de las bacterias aéreas baja rápidamente al final del otoño, permanece poco elevado durante todo el invierno, luego crece y se mantiene alto durante todo el verano. En un mismo día, se observan variaciones horarias, que se producen regularmente á determinadas horas; hay un mínimo á las dos de la mañana y otro á las dos de la tarde, un mínimo á las ocho de la mañana y otro á las siete de la tarde.

Las variaciones diarias están, al parecer, bajo la dependencia de fenómenos meteorológicos. La crecida de bacterias atmosféricas se verifica generalmente bajo las altas presiones. La temperatura dista mucho de provocar recrudescencias tan súbditas. Muy á á menudo las mayores crecidas se verifican en verano, pero calores muy prolongados hacen disminuir sensiblemente el número de las bacterias atmosféricas. Finalmente, los máximos corresponden casi siempre á estados higrométricos débiles.

Una lluvia de alguna duración purifica el aire, que es mucho más rico en bacterias durante los momentos de sequedad que en las épocas de humedad, puesto que retenidos los gérmenes por un substrato húmedo, sólo con mucha dificultad pueden ser levantados por los movimientos del aire que son el principal agente de su diseminación.

El viento es evidente la causa más importante de la dispersión de bacterias y del crecimiento en número de las que están en suspensión en la atmósfera. Su acción es muy poco apreciable cuando el suelo está húmedo, porque retiene fuertemente los gérmenes. No sucede lo mismo cuando el suelo es seco y friable; las corrientes de aire mezclan á la atmósfera una gran cantidad de polvo fino, muy rico en bacterias. Se encuentra de ello una confirmación á todo instante en las investigaciones de laboratorio; cultivos abiertos en una corriente de aire tienen grandes probabilidades de contaminarse; las que se observan en un local en que el aire está muy tranquilo, sin polvo en suspensión, se alteran en una proporción muy débil. En fin, la dirección del viento tiene marcada influencia sobre el número en cuestión. Esta acción, sin embargo, no es particular al aire sino que depende, únicamente sin duda, de las causas de infección que las capas de aire en movimiento encuentran en su camino. Los vientos que atraviesan aglomeraciones de habitantes ó puntos en que hay acumulados detritus orgánicos, son siempre muy ricos en bacterias.

Pasteur había ya demostrado que el aire de las montañas elevadas era infinitamente más pobre en gérmenes que el del campo, y con mayor razón que él de las ciudades. Miquel reconoció que en pleno París el número de bacterias del aire disminuía á medida que ése estaba más alto. Investigaciones hechas al mismo tiempo al nivel del suelo y en lo alto del Panteón le dieron la medida siguiente:

Cúpula del Panteón.. .	29	bacterias	por	metro cúbico.
Parque de Montsouris. .	45	—	—	—
Alcaldía del 4.° distrito.	462	—	—	—

Las capas superiores de la atmósfera son, pues, relativamente muy puras; hay un centenar de metros de diferencia entre los dos términos extremos de esta serie.

En los lugares habitados, como es fácil de prever, el número de bacterias crece en grandes proporciones. Además, se encuentran tanto más numerosas cuantos más individuos están reunidos; se encuentran máximos muy elevados cuando hay desaseo, en las salas públicas, en las casernas, en los hospitales. La respiración no interviene absolutamente en este fenómeno, como se creyó por mucho tiempo. Sabemos, en efecto, por los experimentos de Straus, que el aire expirado, es casi puro de bacterias; contiene proporciones excesivamente mínimas comparadas á las cantidades que encerraba antes de la inspiración. Los corpúsculos en suspención se apegan á las paredes de las vías respiratorias, y allí se fijan. La respiración del hombre ó de los animales tiende pues, bajo este punto de vista, á purificar el aire; si lo ensucia es esparciendo

otros productos perjudiciales. La diseminación de polvo de toda clase en los lugares habitados es lo que carga el aire de bacterias; polvos inertes puestos en suspensión por los movimientos, polvos más ricos en gérmenes procedentes de la superficie del cuerpo ó de secreciones ó excreciones secadas. Aquí es donde debe buscarse la fuente principal de los gérmenes de la atmósfera de las habitaciones, en esto debe fijarse la atención cuando se trata de separarlos en la mayor parte posible.

Se sabe muy poco positivo respecto á la determinación específica de las bacterias del aire. La mayor parte son saprofitas. Miquel confiesa que en sus numerosos experimentos jamás aisló de la atmósfera cultivos de acción patógena bien evidente. Sin embargo como se ha reconocido en el aire la presencia de especies evidentemente patógenas, se ha llegado teóricamente á considerar la atmósfera como una vía, parcial ó exclusiva, de transporte de algunas enfermedades infecciosas. De este modo probablemente se transmiten el sarampión, la escarlatina, la coqueluche y otras enfermedades en alto grado infecciosas. La tuberculosis es ciertamente transmisible por inhalación. Lo mismo sucede con el carbunclo, la septicemia del *vibrión séptico*, en los cuales ciertas manifestaciones clínicas no son explicables de otro modo. La fiebre tifoidea quizás también se propaga por el aire, pues si bien no se ha podido establecer directamente, nada se opone á ello al parecer, sino por el contrario ciertas observaciones bien establecidas apoyan esta opinión. El *bacilo tífico* puede además, por medio de degluciones, llegar al intestino con polvo seco al cual estaba mezclado. Respecto al cólera, ciertas particularidades especiales hacen poco posible su transporte por el aire; la débil resistencia del *espirilo del cólera* á la desecación, es principalmente lo que no le permite conservar por mucho tiempo su vitalidad en suspensión en el aire. Se ha logrado aislar del aire el *micrococcus de la pneumonia;* el *micrococcus de la erisipela* fué encontrado en el aire de las salas de hospitales. Héricourt señaló la presencia en la atmósfera de *bacillus comas* que tienen tal vez relación con formas semejantes señaladas en casos de enteritis coleriformes. La presencia de bacterias patógenas en el aire es pues hoy un hecho incontestable. Los progresos de la técnica permitirán sin duda llegar al conocimiento de mayor número de especies. El estado en el cual se encuentra la substancia infecciosa parece desempeñar un gran papel; como se deduce de los experimentos de Cadéac y Malet, quienes demostraron que la inhalación de polvos secos que encierran *bacilos tuberculosos* muy rara vez ocasionaba la tuberculosis á las cobayas, mientras que estas mismas bacterias pulverizadas con líquidos producen rápidamente su acción patológica.

Además, las bacterias patógenas encuentran en el aire causas de destrucción muy activas. La desecación puede matar las especies frágiles. Pero los principales factores de la destrucción son la luz y el oxígeno que hacen perecer muchas especies perjudiciales, ó al menos atenúan y hacen desaparecer en poco tiempo su virulencia. Por esta razón quizás los cultivos de las bacterias del aire se muestran inactivos. Los caracteres morfológicos, y sobre todo los de los cultivos, podrían darle á conocer.

§ 2

Bacterias del agua

En tesis general, las aguas son mucho más ricas en bacterias que el aire. Se comprende fácilmente notando que este medio líquido ofrece á los seres inferiores condiciones de vida mucho mejores; evitan la desecación que con frecuencia les es tan perjudicial, y encuentran proporciones mucho más grandes de substancias nutritivas.

El estudio bacteriológico de las aguas se ha convertido en una operación de gran importancia, desde que se señalaron en las aguas de bebida bacterias patógenas para el hombre, y

que se reconoció que esta era la vía de transmisión más común de ciertas enfermedades epidémicas de alta gravedad, la fiebre tifoidea, el cólera y las enfermedades disentéricas sobre todo.

De ahí resulta la necesidad de asegurarse si una agua destinada al consumo encierra organismos perjudiciales, y la posibilidad de investigar el punto de partida y el modo de extenderse de ciertas epidemias. El análisis químico suministra muy pocas indicaciones, á menudo casi ninguna, puesto que sólo hay relaciones completamente indirectas entre el contenido de bacterias de un agua y la proporción de materias orgánicas que en ella se encuentran. Ciertamente cuando un agua encierra muchas materias nitrogenadas, ofrece un medio mejor de desarrollo á los seres inferiores que en ella viven; estos últimos, á igualdad de las demás condiciones, pulularán en ella con más abundancia, que en otra menos nutritiva para ellos. Pero si falta la condición esencial, la contaminación, podrá suceder que el agua, tan cargada en restos orgánicos como se quiera, no sea en modo alguno perjudicial. Por otra parte, muchas bacterias, especies temibles entre otras, distan mucho de ser exigentes en materias nitrogenadas; algunas pueden reproducirse y vegetar mucho tiempo en agua destilada, utilizando así cantidades de alimentos tan débiles, que los reactivos químicos más sensibles no las señalan. Aguas muy poco ricas en materias orgánicas y compuestos nitrogenados, dadas como puras por el análisis químico, pueden mostrarse muy pobladas de bacterias. Chantemesse y Widal encontraron numerosos *bacilos tíficos*, durante la epidemia de Pierrefonds, en un agua de pozo que sólo encerraba débiles proporciones de materias nitrogenadas; Macé aisló esta misma especie, muy abundante, de aguas dadas como muy puras por el análisis químico. Además, estas aguas forman á menudo un buen medio nutritivo para especies patógenas. Según las investigaciones de Wolfhügel y Riedel, las aguas de bebida ricas en materias orgánicas, filtradas y esterilizadas, permiten, á temperaturas favorables, un desarrollo abundante del *bacilo del carbunclo*, del *bacilo tífico*, del *espirilo del cólera*. El *bacilo del carbunclo* pulula hasta en el agua no esterilizada, sosteniendo así una lucha con las saprofitas, que hacen desaparecer rápidamente al *espirilo del cólera*.

Teóricamente, un agua que emerge de un terreno que filtra bien, debe ser pura; los experimentos de Pasteur y de Joubert lo demostraron. Pero á menudo el líquido se impurifica á su salida, y esto por causas diversas. Primero el terreno, á través del cual se filtra el agua, puede estar formado de elementos toscos, que dejen entre sí intervalos más ó menos considerables; el líquido sólo en parte se despoja de los corpúsculos en suspensión. El hecho es más común de lo que se cree; repetidos experimentos demostraron que la arena gruesa, aun en capas densas, se deja atravesar por las bacterias; los materiales de una finura extrema son los únicos que filtran bien. Las capas más densas presentan á menudo grietas, que son á veces muy grandes, verdaderas fallas, que impiden que se ejerza la acción purificadora. Un depósito de agua pura puede alterarse por la mezcla de aguas impuras vecinas, infiltrándose por intersticios del suelo. En fin, las mejores capas filtrantes no actúan bien al cabo de cierto tiempo de empleo. Bacterias y hasta hongos se apegan á la superficie de un filtro de tierra de pipa ó de porcelana que ha sufrido la primera cocción, que les detiene tan bien en las condiciones ordinarias, cuando circulan en su contacto, llegan, por una lenta vegetación á adaptarse al pequeño espacio que se les ofrece, hasta llegar á la superficie opuesta, donde vuelven á tomar su aspecto normal. Casi nunca hay suelo tan denso que resista más que estos cuerpos.

Supongamos, no obstante, el agua pura al salir del suelo, como lo es la de los buenos manantiales. A su salida encuentra á menudo numerosas causas de contaminación. Lo mismo sucede durante su curso, en donde se observan con frecuencia hendiduras de los tubos, que permiten la introducción de materias extrañas, ó en los mismos tubos, en los puntos de estancación, masas de materias orgánicas, verdaderos focos de pululación para los microorganismos. Estas causas sólo tienen comúnmente una importancia secundaria, pero

la adquieren grande, si por las hendiduras pueden mezclarse con aguas de deshecho, aguas que hayan servido para lavar objetos manchados, líquidos procedentes de cloacas sobre todo, cosas fáciles de prever desde el momento en que los conductos atraviesan lugares habitados. En fin la contaminación todavía puede hacerse más próxima al final, en el recipiente de provisión ó en el mismo grifo de salida.

Teniendo en cuenta estas circunstancias, bajo el punto de vista las probabilidades de contaminación y por consiguiente del contenido de bacterias, se pueden clasificar del modo siguiente las aguas destinadas al consumo: en primer lugar las aguas de ribera; en segundo lugar las aguas de pozos ó cisternas; en tercer lugar las aguas de manantiales. Sólo estas últimas son generalmente de una pureza relativa; si no son alteradas en su punto de emergencia por un suelo rico en gérmenes, es fácil tomar disposiciones que permitan tomarlas puras. En cuanto á las demás, siempre deben ser sospechosas y separadas de la alimentación. No es que la mayor parte de las veces encierren especies perjudiciales, pues su presencia es débilmente muy rara. Por otra parte, el organismo no se deja invadir por los parásitos con la facilidad de un medio inerte. Además, las bacterias en estado de células vegetativas, son muertas por el jugo gástrico; los esporos no son atacados, pero es preciso que ya se hayan formado, y casi siempre la temperatura poco elevada del agua se opone á ello.

La principal razón de la prohibición que debiera extenderse á las aguas de la primera y segunda categoría, es la extrema facilidad de su contaminación y la gran extensión que entonces pueden tomar las enfermedades epidémicas desarrolladas, visto el número de personas expuestas. Estos hechos fueron ampliamente demostrados por el estudio de ciertas epidemias de fiebre tifoidea, que diezmaban personas que hacían uso de aguas sospechosas con razón, y respetaban toda una serie vecina que consumía agua pura. Se encuentran pruebas convincentes en la notable exposición de los *modos de propagación de la fiebre tifoidea*, hecha por el profesor Brouardel en el Congreso internacional de higiene de Viena, en 1887. Las materias orgánicas desaparecen, consumidas principalmente por las bacterias del agua, pero los gérmenes infecciosos subsisten y pueden llevar lejos su acción.

Bastarían estas razones para que se estimase el estudio bacteriológico de igual importancia, al menos, que el análisis químico. Estos dos estudios deben completarse entre sí, pero en ningún caso suplirse. Ambos tienen gran importancia bajo el punto de vista higiénico; el primero, más quizás que el segundo, á causa de las consecuencias mucho más graves que pueden resultar de la introducción en el organismo de un contagio vivo. Todas las precauciones son útiles de tomar sobre todo en las grandes aglomeraciones de individuos, más quizás todavía en los campamentos, las poblaciones obreras, en donde las malas condiciones de vida, el poco cuidado, la miseria física, crean tantas predisposiciones para las epidemias.

El punto importante no consiste en evaluar, con una gran aproximación, puesto que no es posible saberlo justo, el número de bacterias que se encuentran en un agua dada, lo cual no suministra sino datos muy generales y ninguna indicación directamente práctica, sino *determinar* las especies que en ella están contenidas, ó al menos poder reconocer si entre ellas se encuentran algunas de perjudiciales ó sospechosas. A este objeto deben tender todos los esfuerzos, esta debe ser la idea que guíe las investigaciones. El observador no ha tenido todavía hasta ahora grandes indicios para dirigirse, pero que bastan ya para resolver graves cuestiones, con la condición de hacer estos estudios con la precisión necesaria.

Penetrándose bien de los resultados que pueden obtenerse, es fácil fijar el valor de los diversos procedimientos que han sido propuestos y practicados para el estudio bacteriológico del agua. Sólo son utilizables los que permiten aislar las diversas especies de bacterias y obtener de ellas cultivos puros cuyos caracteres sirvan de base al diagnóstico. Los demás se abandonan completamente por no dar más que resultados inciertos ó del todo insuficientes.

No hay que pensar en el examen directo,

por ser estos seres de talla demasiado pequeña, pues á veces sólo miden fracciones de milésima de milímetro, su refringencia se distingue muy poco de la del medio ambiente, para que su estudio sea practicable al microscopio, provisto de los mayores aumentos. La adición de ácido ósmico no facilita la operación, muy al contrario; partículas orgánicas que difícilmente se distinguen de las bacterias redondas sobre todo, de los *micrococcus*, se colorean también de negro por este procedimiento y pueden ocasionar grandes errores en la numeración. Es imposible á un observador, aun de los más ejercitados, formarse una idea aproximada del número de bacterias contenidas en una gota de agua, por el examen inmediato. Además, por este medio no puede esperarse diferenciar las especies y llegar así al único resultado realmente práctico del análisis bacteriológico del agua; los caracteres propios á los elementos de muchas especies son demasiado análogos para permitir generalmente la distinción.

Lo mismo sucede al examen después de colorarles, tanto si se practica por el método ordinario como por el que propuso Certes. En el primero, una gota de agua se evapora á un calor suave sobre una lámina cubre-objetos á propósito, y la tenue capa que queda se colorea en muy poco tiempo por medio de una solución alcohólica concentrada de fucsina ó de violeta de metilo, luego se lava rápidamente con agua. Además el examen de tales preparaciones, aunque sea poco concienzudo, es penoso y los resultados que se obtienen no son preferibles á los del primer procedimiento. Los cristales ó el sedimento amorfo que resulta de la evaporación opone entonces grandes obstáculos á la observación.

La modificación propuesta por Certes sólo es aplicable en casos muy especiales, y no puede conducir á la solución que se busca. Este hábil micrógrafo aconseja que se dejen caer en el agua que se examina láminas porta-objetos cuidadosamente lavadas al ácido y al alcohol y esterilizadas á la llama. Según él, las bacterias en suspensión en el líquido, bajo la forma de pequeñas colonias viscosas, se adhieren á la lámina de vidrio que les toca. Las láminas recogidas se tratan por los reactivos colorantes y se montan en preparaciones microscópicas. Este método excelente para ciertas grandes especies y que puede dar detalles interesantísimos respecto á la apariencia de las zoogleas pequeñas que las bacterias forman en el agua, no suministran ninguna base segura ni para la numeración ni para el diagnóstico.

La mayor ó menor rapidez con que débiles proporciones del agua de examen licuan cierta cantidad de gelatina, no tiene ninguna significación útil. Hay muchas especies que jamás licuan este medio, y entre ellas algunas muy perjudiciales, el *bacilo tífico*, el *micrococcus de la pneumonia*, el *micrococcus de la erisipela*, entre otras, se encuentran ó se está expuesto á encontrar en el agua. Por otra parte, algunas especies completamente inofensivas, disfrutan de un poder licuante verdaderamente notable. Lo mismo sucede respecto á la aparición más ó menos temprana en los caldos nutritivos del enturbiamiento que indica el desarrollo de bacterias en su masa.

Miquel aplicó al análisis del agua el procedimiento fundado en fraccionar los cultivos, el cual le había servido en el examen bacteriológico del aire, en cultivar en caldo partes de substancia tan diluídas que se pueda estar seguro de no tener en cada matraz más que una sola especie procedente de un germen único. Un pequeño volumen determinado de agua, un centímetro cúbico ó una gota si es necesario, se mezcla por agitación con 100 centímetros cúbicos de agua ó de caldo esterilizados. Esta primera dilución, que podrá hacerse más débil si conviene, se reparte, toda ó sólo una porción, entre una numerosa serie de matraces de pequeño volumen, llenos hasta la mitad de caldo nutritivo, que se ha privado con seguridad de todo germen por una exposición de una ó dos horas al autoclave á 115°-120°. Para que las probabilidades de buen éxito sean muchas, y se pueda tener cierta confianza de haber llegado á una dilución del agua de observación suficiente para que sólo se encuentre una bacteria ó un esporo en el volumen sembrado, precisa que cierto número, un tercio al menos, de los matraces empleados permanezca estéril. A veces es cómodo hacer la primera estimación aproximada,

para llegar con más seguridad á un buen resultado. Esto depende sencillamente del número de matraces; generalmente se debe tomar una gran cantidad, de 50 á 100 y aún más. Este es uno de los inconvenientes del procedimiento que exige una gran instalación. Además, los medios líquidos, si bien que convienen más al desarrollo de la generalidad de las especies de bacterias, se prestan difícilmente á la aislación, cuando varias especies crecen juntas. Puede suceder muy bien que dos, tres, cuatro y más especies vivan juntas en un mismo matraz, sin que el ojo más ejercitado se aperciba de ello. En fin, en las condiciones más favorables, cuando sólo se trata de especies bien y debidamente aisladas, es más difícil reconocer una especie por los caracteres de sus cultivos en medios líquidos que por medio de los que ofrece cuando crece en los medios sólidos habituales.

El método recomendable es ciertamente el verdadero método de los cultivos sobre placas de gelatina de Koch. Precisa, sin embargo, reconocer que el modo de operar preconizado por Miquel conduce á resultados más exactos y permite obtener especies que no dan los cultivos sobre gelatina. Algunas bacterias parece, en efecto, que no pueden crecer sobre estas jaleas, mientras que vegetan muy bien en los caldos. Además, las hay que necesitan para empezar á multiplicarse bastante tiempo, de quince días á un mes á veces. Ahora bien es raro que los cultivos sobre placas pueden mantenerse tanto tiempo en un estado conveniente para la observación; se destruyen casi todos mucho más pronto, á causa de la presencia de especies que licuan la gelatina. Como procedimiento verdaderamente científico, que deba emplearse para investigaciones muy minuciosas, con servicio bien provisto, el de Miquel es sin duda el preferible; ofrece muchos más recursos que el de Koch, el cual reune á su comodidad excesiva, su gran facilidad de observación y que da, en suma, resultados perfectamente satisfactorios. Este es el verdadero método de análisis bacteriológico del agua que puede entrar en la práctica corriente.

Ya expusimos antes la marcha que debe seguirse. La jalea que ha de servir encierra de 8 á 15 por 100 de gelatina según la temperatura exterior; en verano un 10 por 100 es el mínimo. Se ponen á fundir á una temperatura inferior á 40°, tubos preparados del modo que se indicó. Se deja bajar poco á poco la temperatura á 30° y se hace la siembra. El agua se coge por medio de una pipeta, confeccionada con un tubo de vidrio alargado, que se esteriliza cuidadosamente con anterioridad. Se prepara una pequeña provisión que se esteriliza en masa en una hoja de algodón ó en una gran probeta cerrada con un tapón de algodón en rama. La provisión de agua se agita enérgicamente de modo que las bacterias se repartan por la masa lo más uniformemente posible. Se introduce la pipeta por el orificio del frasco, vuelto hacia bajo el extremo afilado, y se deja subir el líquido hasta cierta altura. Se destapa un tubo de gelatina, y por medio de la pipeta se deja caer una gota de agua que se mezcla íntimamente con la jalea, sacudiendo ligeramente el tubo y haciéndole rodar suavemente entre los dedos de modo que no se provoque la formación de burbujas de aire. Se procede del mismo modo con otro tubo si se quieren hacer á la vez varios cultivos de la misma muestra. Por medio de esta primera dilución se obtiene una segunda mezclando una ó varias gotas del contenido de este primer tubo á la gelatina de un segundo; luego de este segundo un tercero, y continuando así un cuarto á veces, cuando las aguas son muy ricas en bacterias. En casos especiales, cuando se experimenta con agua de albañal, puede ser necesario llevar hasta más lejos la dilución. Entonces es más cómodo partir ya de una dilución muy grande, obtenida por ejemplo mezclando 1 centímetro cúbico del líquido de muestra á 100 cúbicos ó más de agua ó de caldo cuidadosamente esterilizados, y operar con esta dilución como con el agua en los casos precedentes. Es una simple cuestión de apreciaciones, y se resuelve muy aprisa después de algunos tanteos.

La gelatina se vierte sobre placas esterilizadas con las precauciones indicadas. Las colonias se colocan en mayor ó menor número sobre pequeños estantes metálicos y se dejan en un cuarto húmedo á una temperatura de 15° á 20°. Los cuartos húmedos deben esteri-

lizarse con atención á una alta temperatura cuando sea posible, ó por medio de líquidos antisépticos, para evitar principalmente el desarrollo de hongos, tan funestos á los cultivos; la humedad se retiene por medio de esponjas ó de tapones de algodón en rama impregnados de agua hervida.

Generalmente las colonias aparecen de veinticuatro á treintiséis horas bajo la forma de pequeños puntos blancos. Con un débil aumento, son pequeñas manchas discoídeas ó esféricas, blancas ó amarillentas. Hasta algunos días después no toman un aspecto característico; sin embargo algunas especies que licuan la gelatina, se desarrollan muy aprisa y alcanzan rápidamente su máximo; por esto deben seguirse atentamente los cultivos á partir de la vigésima hora. Generalmente las placas deben estudiarse con cuidado entre el segundo y quinto día. En este momento los caracteres de muchas colonias bastan para poder clasificarlas aproximadamente, si no con certeza absoluta.

Entonces es posible obtener cultivos puros de las diversas especies sacándolas de estas colonias y sembrándolas, según los procedimientos ya indicados.

Generalmente la placa n.° 1, de la primera dilución no puede servir mucho tiempo. Por lo común contienen numerosas colonias, que se tocan, se confunden en parte y se estorban en su desarrollo. Además, la capa de jalea suele licuarse antes de que el desarrollo sea suficiente para muchas colonias.

Si se quiere contar al principio las colonias producidas, de modo que se pueda establecer aproximadamente el número de bacterias que puede contener un volumen dado de agua, 1 centímetro cúbico ó 1 litro, es posible utilizar la primera placa en los primeros días, antes de su licuación. Precisa á este caso servirse de un volumen de gelatina, 10 centímetros cúbicos, exactamente medido y de una pipeta que dé 20 gotas de agua por centímetro cúbico. Se coloca la placa sobre una hoja de cartón negro, dividida por rasgos blancos en pequeños diámetros de $^1/_2$ ó 1 centímetro de lado. La numeración de las colonias contenidas en cada uno de esos cuadrados puede hacerse fácilmente á simple vista ó con una lente; el total da la cifra buscada. Es fácil obtener por el cálculo los números que se refieren al volumen que se desea. Estas cifras son evidentemente menores que las reales, puesto que sabemos que algunas especies necesitan más tiempo para desarrollarse, y también que algunas ni existen en la gelatina. Por otro lado, si se comete un pequeño error en la numeración, se encuentra considerablemente aumentado en las operaciones ulteriores.

Para evitar todo lo posible la introducción de gérmenes extraños por el aire, se propuso solidificar la gelatina de las diversas diluciones en el interior de vasos cerrados. Girard emplea los frascos de Erlenmeyer, cónicos, de fondo ancho y plano. En cada uno de los frascos se introducen 10 centímetros cúbicos de gelatina, se cierran con un tapón de algodón en rama y se les lleva á los aparatos de esterilizar. Las diluciones se hacen como en los tubos; se dispone la jalea en una capa que ocupa el fondo del vaso. Las colonias se desarrollan; la numeración se hace colocando el frasco sobre un papel cuadrícula como en el caso anterior. Pero es difícil, á veces casi imposible, poder estudiar de cerca y directamente las diversas colonias que se desarrollan en la gelatina; es muy aventurado poder procurarse partículas de colonias sin perjudicar las contiguas.

Esmarch aconseja solidificar la gelatina en el interior de una gran probeta en donde se hace la mezcla. Es muy difícil alcanzar las colonias y cuando hay, lo cual sucede constantemente, especies que licuan la gelatina, el líquido producido fluye en seguida y viene á desordenar el experimento.

Miquel se sirve de cristalizadores planos con una cubierta horadada, en cuyo orificio se coloca á rozamiento duro, un tapón prolongado en tubo delgado como el de los matraces Pasteur. El aparato se esteriliza con gelatina; la siembra se hace por el orificio. Así los cultivos están menos expuestos á la contaminación del aire.

La modificación propuesta por Malpert-Neuville debe rechazarse de la práctica. Esparce la gelatina en corona sobre la placa, pone el agua de examen en el vacío central y hace la mezcla sobre la misma placa en un

alambre de platino esterilizado. Además de que este método expone á mayor contaminación por los gérmenes del aire, y no es posible llegar á una mezcla perfecta, es decir, á desparramar regularmente los gérmenes en la masa. Las diluciones se hacen previamente, en agua ó caldo esterilizados. El autor citado propone este procedimiento para evitar el error que puede resultar de la gelatina que queda siempre en el tubo en que se opera la dilución. Es más sencillo cuando se quiere tener en cuenta en una numeración, dejar solidificar la jalea restante en el mismo tubo, colocado horizontalmente, y contar en seguida las colonias que en él se desarrollan para hacer entrar su número en la cifra total.

Arloing describió, bajo el nombre de *indicador bacteriológico,* un instrumento muy complicado, destinado según él, á obviar una gran parte de los inconvenientes del procedimiento ordinario de los cultivos sobre placas, y especialmente para evitar la contaminación por el aire ó hacer reconocer fácilmente los gérmenes extraños, introducidos por esta vía. El agua de examen se coloca en una pipeta exactamente graduada, afilada en punta capilar y que da gotas iguales y muy espaciadas. El agua se diluye más ó menos según su contenido de bacterias, que es necesario apreciar previamente de un modo muy aproximado. Cuando se quieren hacer cultivos en matraces de caldo, se reparte el líquido gota á gota en la serie de vasos, como lo hace Miquel. Pero para los cultivos sobre gelatina la técnica se complica. La gelatina se extiende primero por una placa de vidrio de 12 centímetros de largo por 5 de ancho, se divide por rayas hechas con diamante, en sesenta cuadrados iguales de 1 centímetro de altura. Esta placa así dispuesta se transporta á una caja rectangular de cobre, provista de una cubierta formada de dos láminas de vidrio, móviles en derredor de charnelas, colocadas en los lados más estrechos de la caja. Estas dos válvulas no se yuxtaponen, sino que tienen entre sí una pequeña placa de cobre de 7 milímetros de ancho, provista en el centro de un orificio estrecho, por donde se puede hacer pasar el extremo capilar de la pipeta. Por medio de un mecanismo muy ingenioso, dirigido por un piñón colocado al exterior bajo la mano del observador, se pueden hacer pasar sucesivamente bajo el extremo de la pipeta todos los cuadrados de la placa de gelatina. Una gota cae en su centro. Cuando se ha concluído la repartición, se retira la pipeta, se levanta la placa y se la coloca en el cuarto húmedo. Las gotitas de agua se evaporan; los gérmenes que encierran se adhieren á la superficie de la jalea y allí se desarrollan en la parte central de cada cuadrado. En esta situación se distinguen los gérmenes del agua de los que proceden accidentalmente del aire. Ahora bien, no hay ninguna razón para que los gérmenes del aire se depositen mejor en la periferia del cuadrado que en su centro; toda la superficie de cada una de las divisiones tiene iguales probabilidades de contaminación. Además, los experimento de los laboratorios demuestran que, cuando se toman todas las precauciones requeridas para la confección de placas, no es al principio que se verifica la contaminación por el aire, cuando las placas permanecen encerradas en cuartos húmedos cuidadosamente esterilizados, sino que se nota sobre todo cuando se manejan los cultivos para examinarlos. En fin, tampoco se conocen los caracteres de las colonias que se desarrollan en el interior mismo de la jalea, tan importantes y á menudo tan característicos, que dan la mayor parte de su valor al procedimiento de cultivo sobre placas. El aparato propuesto por Arloing tiene la gran falta de complicar extraordinariamente la técnica sin dar en cambio ventajas que la compensen.

En suma, todavía es el método original de Koch el preferible, como el más sencillo y general. Además, pronto se llega con la costumbre y un poco de cuidado á obviar una gran parte de los inconvenientes citados.

Un grupo de bacterias que no se pueden aislar de este modo, son las especies *anerobias*. No se tienen datos por ahora respecto á la presencia ó falta de tales bacterias en el agua, sin embargo, es probable que no falten. Su estudio, que sería de un gran interés, necesitaría el empleo de métodos especiales. La técnica indicada por Roux daría ciertamente buenos resultados.

El agua de examen casi nunca se lleva di-

rectamente al experimentador. Como ha de sufrir un transporte más ó menos largo, es necesario recogerla en vasos preparados á este efecto, que no contengan ningún germen que pueda alterar los resultados. Generalmente bastan tubos ó matraces de pequeña talla; se esterilizan previamente á 150° con sus tapones, luego se tapan todavía calientes. Se llenan hasta el orificio de salida, después que se ha dejado derramar el primer chorro destinado á llevarse las impurezas de esta parte del conducto, si el derrame no es continuo, luego se cierran en seguida. Cuando se trata de una balsa de agua, los vasos, que se rodearon cuando calientes de una hoja de algodón en rama esterilizada con ellos, se sacan y se zambullen por medio de unas pinzas esterilizadas, en el líquido, luego se retiran llenos y se tapan. Se pueden utilizar con gran ventaja matraces cuyo cuello se ha estirado en punta al soplete; estos matraces se calientan fuertemente, luego se cierran al fuego todavía calientes. Hay, pues, un vacío relativo en su interior. La punta sumergida en el agua se rompe con unas pinzas esterilizadas; el líquido penetra al interior en mayor ó menor cantidad; la parte afilada se cierra á la llama. Al llegar al lugar de destino la punta se pasa por el fuego, para destruir los gérmenes que á ella pudieron fijarse, luego se rompe con unas pinzas esterilizadas, ó con un pedazo de lima y un carbón rojo. Es muy cómodo servirse de ampollas de vidrio, prolongadas de cada lado en una punta afilada, que es muy fácil fabricar al soplete. Ninguna de las rigurosas precauciones indicadas debe descuidarse cuando se desean obtener los mejores resultados posibles.

La cuestión del transporte del agua es más complicada de lo que parece á primera vista. Puede efectivamente suceder que se observen diferencias muy sensibles en el contenido en gérmenes ó en la naturaleza de las especies aisladas del agua tomada en vasos cerrados y transportados más ó menos lejos de su lugar originario. Generalmente hay más bacterias en número, en el segundo caso; se puede, no obstante, encontrar menos, por haber desaparecido algunas. Muchas bacterias, como las patógenas, vegetan muy bien en el agua común, poco rica en materias orgánicas. Wolfhügel y Riedel, en un trabajo ya citado, demostraron que el *bacilo del carbunclo* vivía y crecía muy bien en el agua ordinaria á temperaturas favorables, sin dejarse dominar por las especies saprofitas. Algunas bacterias, como Meade Bolton demostró para dos especies comunes en el agua, el *micrococcus aquatilis* y el *bacillus erythrosporus,* pululan en el agua destilada, contentándose con proporciones muy mínimas de materias alimenticias. Esta potencia de vegetación es función de la temperatura y del tiempo que media desde que se toma la muestra hasta que se examina. La multiplicación muy rápida á 15° y á más, disminuye á medida que el grado de calor baja; es bastante débil á 10°-8°, poco sensible á menos de 5°; parece nula á 0°. Por esto, para un análisis rigurosamente exacto, para una numeración tan aproximada como sea posible, precisa mantener las muestras de agua á baja temperatura rodeándolas de hielo. El frío no es perjudicial á la vitalidad de los gérmenes; la misma congelación del agua que los encierra no les perjudica, con tal que no esa prolongada. Algunas especies más exigentes bajo el punto de vista alimenticio, ó menos resistentes á la concurrencia de saprofitas, desaparecen rápidamente; tal sucede al *espirilo del cólera* que muere siempre después de dos semanas de permanecer en el agua común. Si el agua permanece mucho tiempo en botellas bien llenas y herméticamente cerradas, el oxígeno que contienen es consumido lentamente; las bacterias verdaderamente aerobias, las de algunas putrefacciones por ejemplo, ya no encuentran este gas que les es absolutamente necesario, caen en vida latente, dan esporos cuando pueden ó perecen muy aprisa. Esta es la causa de disminución en el número de colonias que se desarrollan, como también es la causa de la desaparición completa de ciertas especies muy exigentes en oxígeno. Se obvía este inconveniente no llenando totalmente el vaso; es verdad que entonces se expone uno á introducir algunos gérmenes del aire, pero la contaminación es insignificante si se cuida de operar en una atmósfera tranquila, que no contenga polvo en suspensión.

Las bacterias patógenas señaladas hasta ahora en el agua son poco numerosas. Las que más importa reconocer son evidentemente las de la fiebre tifóidea y del cólera. Las aguas contaminadas por las materias fecales pueden encerrar el *bacillus coli communis*, que tiene una acción nociva muy marcada sobre los animales de experimentación y debe considerarse como sospechoso. Pasteur aisló del agua del Vannes su *vibrión piógeno*, anerobio facultativo, que introducido en la sangre de los conejos, les hace perecer con los síntomas de una grave piohemia; Gaffky encontró en el agua del Panke el *bacillus murisepticus*, de una virulencia extrema para los ratones.

Además de estas especies, cuya presencia en el agua es segura, suele encontrarse un día ú otro el *bacilo del carbunclo*, que evidentemente debe emplear esta vía de transporte. En fin, es interesante reconocer ciertas especies propias de las putrefacciones de las materias albuminóideas que, si no son directamente perjudiciales, deben temerse á causa de la toxicidad de sus productos de secreción.

Las dos especies señaladas en primer lugar, el *bacilo tífico* y el *espirilo del cólera*, son principalmente las que el experimentador ha de tratar de investigar y caracterizar. El aspecto particular de las colonias en cultivo sobre placas pondrá en camino; un estudio completo de cultivos sobre los otros medios habituales y la demostración de los caracteres morfológicos citados son los únicos en que se puede fundar un diagnóstico sólidamente establecido.

El contenido de bacterias de aguas de diversa procedencia varía entre amplios límites. El cuadro siguiente, debido á Miquel, permite formarse una idea de los números obtenidos en casos muy distintos:

Agua de lluvia.	35	bacterias	por	centímetro	cúbico.
» del Vannes.	62	»	»	»	»
» del Sena en Bercy.	1,400	»	»	»	»
» del Sena en Asnières. . . .	3,200	»	»	»	»
» de albañal tomada en Clichy.	20,000	»	»	»	»

Sabemos que la congelación generalmente no tiene efecto sobre las bacterias. La acción del frío varía, no obstante, según la especie. Así, según los experimentos de Prudden, mientras que el *micrococcus pyogenes aureus* y el *bacillus typhosus* resisten la congelación por mucho tiempo, puesto que el primero todavía vive después de sesentiséis días y el segundo después de ciento ocho, el *micrococcus prodigiosus* y el *proteus vulgaris* de Hauser mueren al cabo de cinco días de congelación continua. Congelaciones sucesivas son más perjudiciales que una congelación prolongada. De ahí resulta que el hielo contiene gran parte de las bacterias encerradas en el agua que lo formó. De donde se deduce, que el empleo alimenticio de hielo hecho con agua contaminada puede ser tan perjudicial como el de la misma agua pura. Precisa pues desechar de la alimentación el hielo procedente de aguas de ribera ó de canales; siempre es de una impureza manifiesta, como se prueba hasta la evidencia con las investigaciones de Fränkel.

Las aguas minerales, frías ó calientes, encierran también comúnmente bacterias. Las hay en aguas de temperatura muy elevada, de 50° á 60° y más. Recientemente se quiso atribuir un gran papel á las bacterias de ciertas aguas alcalinas en el efecto estimulante que ejercen en la digestión, haciendo intervenir las diastasas que estos seres segregan. Estas son cuestiones de pura experimentación que exigen para aclararse pruebas directas que todavía se han de suministrar.

§ 3

Bacterias del suelo.

El suelo es en general muy rico en bacterias, más rico aun que los medios precedentes, que ofrecen á estos organismos condiciones de nutrición y desarrollo menos buenos. Efectivamente, la tierra encierra siempre cantidades de materias orgánicas considerables con relación á las que contiene el agua, pero sobre todo cuando hay en ella infiltraciones de ma-

terias fecales, de orina, de aguas sucias, entonces se convierte en un excelente medio de cultivo para la pululación de las bacterias.

El número de bacterias que encierra una tierra dada varía según su riqueza en principios nutritivos y ciertas condiciones físicas, indispensables, según sabemos, á la vida de estos seres, aereación, humedad, temperatura. Estas mismas condiciones determinan también su distribución en altura. Es evidente que cuanto más se aleja de la superficie para acercarse á las capas profundas, pobres en oxígeno y menos cargadas de materias orgánicas, más se ve disminuir la proporción de seres vivos que consumen estos principios. Esto es principalmente cierto en las especies aerobias verdaderas que no pueden vegetar convenientemente sin encontrar á su disposición oxígeno en abundancia. Pero hay numerosas especies que se contentan con proporciones muy mínimas de este gas y aun pueden pasarse sin él durante algún tiempo sin cesar por eso de multiplicarse; lo mismo sucede á los anerobios que sólo vegetan cuando carecen de él. Para éstos, los últimos sobre todo, las capas inferiores del suelo son todavía habitables, cuando es imposible la vida en las primeras. Deben encontrarse allí con preferencia, y si hasta ahora sólo se ha señalado la presencia de un número muy restringido de estas formas, es porque la técnica especial de sus cultivos empieza apenas á vulgarizarse. Por esto según los diversos autores que se han ocupado de las bacterias del suelo, su número decrece rápidamente á medida que se separan de la superficie. Sólo el estudio de los anerobios puede demostrar el valor de esta regla dada prematuramente como general. Sin embargo, parece probable que á cierta profundidad el suelo está desprovisto completamente de gérmenes. Es el corolario necesario de la pureza de las aguas que emergen de capas profundas. En cuanto á este grado de profundidad en que la vida ya no se observa, varía naturalmente con la naturaleza geológica del suelo y sobre todo con su grado de permeabilidad.

Para el estudio bacteriológico del suelo precisa el empleo de procedimientos análogos á los usados para el análisis del agua.

El método de Miquel de diluciones fragmentadas en los caldos, debe dar excelentes resultados. Es evidente que, lo mismo que para el agua, permitirá aislar mayor número de especies, á causa de la facilidad de hacer variar la composición del medio nutritivo. Pero, vista la cantidad de bacterias contenidas en el suelo, se necesita llevar la dilución muy lejos; es uno de los grandes inconvenientes de este modo de obrar, pues exige un trabajo complicado y laboratorios espaciosos.

El procedimiento de los cultivos sobre placas da buenos resultados, salvo las restricciones admitidas por el agua. La tierra de análisis puede encerrar especies que no crezcan en la gelatina ó sólo vegetan con gran lentitud; tales bacterias parecen sin embargo poco abundantes. Además, no es posible aislar los anerobios sino recurriendo á una técnica especial.

La tierra destinada al estudio debe recogerse con las precauciones requeridas para no introducir gérmenes extraños; debe tomarse si es posible, desprovista de piedras ó de otros cuerpos de gran volumen. La recolección de muestras se hace fácilmente en la superficie ó á una pequeña profundidad. Para las capas algo profundas la operación se complica. Se puede dar un corte y recoger porciones al nivel designado, por medio de espátulas esterilizadas; se saca un cubo de unos diez centímetros de lado, en el interior del cual se tomarán las partes que se hayan de examinar. Cuando se han de alcanzar las capas profundas y el terreno no se presta á la maniobra precedente, precisa recurrir al barreno; puede emplearse ventajosamente un trépano de acero cuya corona tiene al menos 10 centímetros de diámetro, que arrastra de la profundidad que se quiera un terrón de tierra bastante grande. Fränkel, en sus investigaciones sobre los microorganismos del suelo, recomienda una especie de sonda hueca, de acero, que lleva en su parte terminal un paso de tornillo que ayuda á hundirla. El instrumento, con un largo mango, se introduce tan lejos como se desea; un movimiento especial hace descubrir, en el momento deseado, una abertura practicada en el núcleo de la sonda y en la cual una pequeña aspa lateral lleva un poco

de tierra. Un movimiento inverso cierra la cavidad; entonces se retira el instrumento. Si se tiene cuidado de esterilizar la sonda, la tierra llevada á la superficie no contiene ningún germen extraño.

La tierra recogida debe examinarse inmediatamente para estar seguros de los resultados, al menos de los resultados cuantitativos. En las condiciones ordinarias, en efecto, á una temperatura mediana, puede operarse una multiplicación de las bacterias contenidas en la muestra recogida, tanto más considerable, cuanto más substancia nutritiva encierra la tierra y mayor tiempo pasa entre la recolección de la muestra y su estudio. Las mismas causas que actuaban sobre las muestras de agua de análisis se encuentran aquí, produciendo quizás más efecto. Por eso precisa tomar las mismas precauciones para el transporte, cuando se desean obtener resultados rigurosos y completos. Las muestras deben mantenerse á baja temperatura; se las puede encerrar en vasos esterilizados y colocarlas en el hielo. Cuando uno quiere limitarse á investigar especies muy resistentes, el *vibrión séptico*, el *bacilo del carbunclo*, ó el *bacilo tífico*, por ejemplo, y no se desea una numeración exacta, se pueden simplificar las operaciones. Estas especies, en efecto, en vez de desaparecer, pulularán mejor y se encontrarán así más fácilmente. Además, como para el agua, el aislamiento de las especies, las patógenas sobre todo, es un resultado mucho más importante que una simple numeración, sin distinción de los seres que componen la cifra. Entonces puede uno contentarse con embalar las grandes glebas de tierra de manera que no puedan desecarse ni fraccionarse, ó con encerrar las pequeñas porciones en frascos esterilizados.

Por medio de un pequeño peine metálico que mide de 2 á 4 milímetros cúbicos, y que se esteriliza al fuego, se sacan porciones de tierra sensiblemente iguales en la masa contenida en los frascos ó en la parte central de la gleba que se cortó con un cuchillo esterilizado. Cada una de las partículas se diluye cuidadosamente en un pequeño volumen, 1 ó 2 centímetros cúbicos de caldo esterilizado. La operación, que es bastante minuciosa, se hace bien en un tubo de ensayo esterilizado, triturando la masa con una varilla de vidrio calentada. Cuando la repartición es completa, se añaden 10 centímetros cúbicos de gelatina fundida, como para la confección de cultivos sobre placas ordinarias; se agita suavemente para repartir bien la mezcla, y con esta primera dilución se hacen otras dos ó tres, según la cantidad supuesta de bacterias que contiene la tierra, para obtener colonias bastante aisladas unas de otras. La operación termina como para los cultivos sobre placas ordinarias. La gran ventaja de este modo de obrar es el conservar por sí mismas las porciones de tierra ó arena, que retienen á menudo, por fenómenos de adhesión, los gérmenes que llegaron á su contacto. Estos gérmenes crecen y dan colonias que se distinguen fácilmente de las partículas en suspensión en la jalea por su forma, su desarrollo y su composición.

Pasteur fué el primero en aislar del suelo especies definidas. Encontró el *vibrión séptico* y el *bacilo del carbunclo*. Conocemos su técnica. Pulveriza la tierra de modo que se separen las partículas toscas; el agua de lavaje se decanta, luego se deja en reposo absoluto. El depósito que se separa es ligeramente acidulado, luego calentado durante algunos minutos á 90°, para matar la mayor parte de las bacterias que contiene. Inyectando porciones de este depósito bajo la piel de cobayas, se les ve á veces morir del carbunclo ó de una septicemia de marcha rápida; su sangre encierra una ú otra de las especies de bacterias citadas. El *bacilo del carbunclo* puede obtenerse fácilmente en cultivos sobre placas, en donde forma colonias muy características; es sin embargo necesario asegurarse de todas sus propiedades, puesto que ciertas especies del suelo se prestan á confusión; la acción fisiológica fácil de observar es un criterio de una seguridad absoluta. No sucede lo mismo con el *vibrión séptico* cuyo carácter anerobio hace el aislamiento difícil. Fränkel, en sus concienzudas investigaciones, no pudo descubrirlo sino por el procedimiento de Pasteur, la inoculación de la tierra en animales.

La presencia en la tierra de bacterias que determinen el tétanos en los animales de experimento fué demostrada por Nicolaier; pero

el bacilo sospechoso no se ha podido aislar con toda certeza.

Las bacterias de fermentación son muy comunes en el suelo; el *micrococcus ureæ* desempeña un cometido de primer orden transformando la urea en carbonato amónico, que á su vez bajo la acción oxidante del *fermento nitrico,* de Schlœsing y Müntz, acción á la cual contribuyen varias especies aerobias, da ácido nítrico. Los nitratos formados con los álcalis del suelo son los más asimilables para las plantas; así es como el nitrógeno entra en la circulación vital. Otras especies pueden obrar por el contrario como agentes reductores sobre los nitratos producidos y llevarlos al estado de nitritos; son probablemente especies anerobias, en cuya primera fila debiera colocarse, según Déhérain y Maquenne, el *vibrión butírico* de Pasteur. Se comprende cuan grande importancia tiene, para la vida de las plantas, la presencia en el suelo de estas bacterias que transforman en principios muy nutritivos desechos de la vida de seres más elevados, los cuales sin esto no serían asimilables por aquéllas. La prueba más convincente fué dada por Duclaux, que demostró que haciendo germinar granos en un suelo desprovisto de bacterias no se obtenían sino individuos delgados, raquíticos, tan débiles como los que se encuentran en el agua pura.

El suelo encierra una cantidad de otras especies todavía mal conocidas. El *bacillus mycoides* es en él frecuente; se le reconoce en los cultivos sobre placas por sus colonias ramificadas que parecen por su aspecto un pequeño micelio de hongo. Una buena parte de las especies del aire deben encontrarse también en el suelo, al menos en sus capas superiores; de la superficie del suelo es de donde procede en efecto el polvo que contamina la atmósfera.

Respecto á la vida de las bacterias del suelo se tienen muy pocos datos; es sin embargo un punto muy importante para la etiología de las enfermedades infecciosas. Algunas especies patógenas ven atenuar su virulencia bajo la influencia de causas diversas; otras, las especies de esporos sobre todo, parece que pueden conservarla intacta durante un tiempo muy largo, sino indefinido. Pasteur volvió carbunclosos carneros á los cuales inoculó tierra de la que cubría la fosa de animales muertos del carbunclo doce años antes. Y en estas condiciones parece muy difícil dar con los productos virulentos que se quisieran destruir.

§ 4

Bacterias del cuerpo.

El interior mismo del organismo, en estado normal, parece ser un medio absolutamente cerrado para los gérmenes de naturaleza diversa. Tal resulta de los experimentos de Pasteur, los cuales demuestran que diversos líquidos de la economía, recogidos con todas las precauciones necesarias para no introducir bacterias durante las manipulaciones ó con los aparatos empleados, dan medios de cultivo completamente puros. En estas condiciones, la sangre no se pudre jamás, ni aun colocada mucho tiempo en estufa; su olor se conserva igual al de la sangre fresca, sus cualidades subsisten idénticas; se oxida simplemente un poco, cuando el vaso en que se conserva encierra aire. Lo mismo sucede con la leche y la orina, que sólo sufren alteraciones secundarias, debidas á ligeras modificaciones químicas de algunos de sus principios constitutivos.

Lo mismo deduce Duclaux de numerosas siembras de fragmentos de tejidos en líquidos nutritivos muy diversos. Sirviéndose de porciones de glándulas anexas al tubo digestivo, glándulas salivarias, páncreas, hígado, tomadas bastante lejos de la entrada en la glándula del canal excretor, sólo obtuvo en débiles porciones un desarrollo en sus cultivos, lo cual debe referirse sin duda alguna, según él,

á contaminaciones por el aire, imposibles de evitar completamente en tales experimentos. Las primeras porciones del canal excretor glandular y los tejidos inmediatos dan por el contrario resultados positivos; estos canales están, en efecto, en contacto directo con el intestino que, comunicando con el exterior, encierra numerosas bacterias.

Las investigaciones de Hauser le condujeron á conclusiones idénticas. En los tejidos vivos y en el jugo exprimido de estos tejidos, en los animales sanos, no se encuentra ninguna especie de bacterias, en particular ninguna bacteria de putrefacción. El tejido vivo, separado del organismo y conservado al abrigo de toda bacteria en el aire, el oxígeno, el ácido carbónico, en el agua ó cualquier otro medio nutritivo, no se pudre, pero sufre una metamórfosis regresiva, una especie de necrosis, análoga á la de los tejidos que carecen de nutrición en el organismo mismo, al abrigo de bacterias. En fin, los productos que proceden de estas modificaciones no tienen ninguna acción patógena.

Sin embargo, no sucede lo mismo para las partes del cuerpo en comunicación inmediata con el aire exterior. Allí las bacterias se encuentran más á menudo y en mayor número, llevadas por el aire ó bien progresan lentamente por los orificios libres hasta puntos más profundos. La penetración de estos organismos en el interior mismo de los órganos, y de allí en la sangre, encuentra felizmente una barrera poderosa en la integridad de las capas epiteliales que revisten estas partes. Pero la obstrucción no parece absoluta, porque en ciertos casos parece probable que la infección pueda hacerse directamente, por penetración de especies perjudiciales á través de los epitelios, sin lesión alguna de revestimiento. Esta es en particular la opinión de Koch para la *bacteria del carbunclo,* pero el observador en tal caso se encuentra en presencia de condiciones especiales del epitelio intestinal, en relación con el acto de la digestión.

Aquí la expresión *organismo sano* no implica solamente un estado momentáneo de perfecta apariencia de salud, sino que debe comprender organismos que no hayan estado expuestos á enfermedades cuyos efectos pueden tardar en aparecer y que sólo producen relaciones secundarias, á veces hasta desapercibidas, con la infección. Los gérmenes patógenos, introducidos en un organismo que no presenta las condiciones favorables á su desarrollo, pueden aletargarse, conservando su potencia virulenta durante bastante tiempo, hasta que una modificación á veces insignificante, les permite pulular é invadir el cuerpo. Tal es la teoría del *microbismo latente* de Verneuil, que aclaran ciertas propiedades biológicas de los cultivos de especies patógenas.

La *piel* del hombre está habitada por numerosas especies de bacterias. Desde luego pueden encontrarse en ella todas las del aire. Es preciso ocuparse de nuevo del estudio de esta interesante cuestión. Bordoni señala cinco especies de *micrococcus,* en particular el que Sehlen considera como causa de la *alopecia,* y dos bacilos, el uno que crece en largos filamentos y que parece un *leptothrix epidermidis* del cual habla Bizzozero y el otro cuyos cultivos despiden un olor fétido, que denomina *bacterium graveolens,* y una sarcina que es probablemente la *sarcina lutea.* También se encontraron en la piel numerosas especies saprofitas. Entre las bacterias patógenas, se aislaron especies de la supuración, y en particular el *micrococcus pyogenes aureus* y el *micrococcus pyogenes albus,* presto á penetrar en el organismo al menor rasguño. Estas bacterias no se encuentran únicamente en la superficie inmediata de las capas epidérmicas, sino que deben penetrar á bastante profundidad entre las células. Efectivamente, un simple lavaje, un lavaje al jabón con un cepillo, no bastan para purificar completamente la piel; aplicando una parte de la mano así enjabonada y frotada sobre una placa de gelatina, se ven muy á menudo colonias que se desarrollan en el lugar en que se hizo el contacto. Precisa recurrir á procedimientos más completos y seguros para esterilizar completamente la piel. Hay que cepillar cuidadosamente la piel con agua de jabón, luego lavarla bien con una fuerte solución de sublimado, el licor de Van Swieton por ejemplo; en seguida se lava con alcohol primero y con éter que se evapora rápidamente.

Pero este modo de proceder expone todavía á un error, puesto que las bacterias pueden estar resguardadas de la acción del reactivo. Pueden en particular invadir las glándulas sudoríparas ó las glándulas sebáceas, pasando por sus canales excretores. Las especies piógenas toman evidentemente esta vía, como lo demuestran los experimentos de Garré; las especies cromógenas, *micrococcus hæmatodes* y *bacillus pyocyaneus,* pueden también desarrollarse en las glándulas sudoríparas y ocasionar el fenómeno de los sudores coloreados.

El *tubo digestivo,* en sus diversas porciones, encierra bacterias muy numerosas y variadas, que generalmente proceden del aire, el que las deposita en las vías anteriores de donde son arrastradas por la deglución. Ciertas especies parecen propias de este medio; pues hasta ahora, jamás se han señalado en estado libre en la naturaleza.

La naturaleza de las especies que se aislan, varía según la parte del tubo intestinal de que se trata. La razón de este hecho estriba únicamente en las condiciones del medio que pueden cambiar considerablemente. La boca ofrece un medio favorable á la vida de estos seres; en ella abundan los alimentos y la reacción de la saliva es alcalina; por esto se les encuentra en gran abundancia, desarrollándose principalmente en los intersticios dentales, en donde están menos sujetos á los frotamientos y á las diversas acciones mecánicas que pueden arrastrarles. El estómago y su contenido muy ácidos, son menos propicios á la pululación de bacterias. Muchas especies perecen en él, muertas por la acidez del jugo gástrico; otras, más resistentes, pasan sobre todo en estado de esporos, ó rodeados de materias alimenticias que les preserven de la acción nociva del medio. No sucede lo mismo en el intestino cuyos líquidos tienen la mayor parte una reacción alcalina; por esto las bacterias pululan en él, interviniendo evidentemente en gran parte en las modificaciones del contenido.

El estudio de las bacterias de la *boca* ha atraído numerosos observadores, que le han hecho objeto de estudios interesantísimos, sin que la cuestión parezca todavía resuelta. Miller obtuvo cinco especies que designa con las letras griegas α, β, γ, δ, ε. Rasmussen encontró varias especies de hongos y una levadura, al lado de algunas bacterias. El trabajo más completo es el de Vignal, quien aisló de la saliva, del sarro dental ó de la secreción lingual, diecinueve especies diversas, que pudo referir en parte á tipos conocidos. El procedimiento empleado era el de los cultivos sobre placas. Una partícula de materia de examen era diluída con cuidado en un pequeño volumen de caldo esterilizado, que se añadía en seguida á la cantidad habitual de la gelatina. Así pudo reconocer varias especies saprofitas, entre otras los *leptothrix buccalis, bacillus mesentericus vulgatus, bacillus termo, bacillus subtilis, bacillus ulna, spirillum rugula.* Acompañando á estas últimas encontró bacterias patógenas, el *micrococcus pyogenes aureus* y *micrococcus pyogenes albus*, y además el *micrococcus Pasteuri,* cuya presencia en la saliva en estado normal había señalado también Netter. Desgraciadamente no da en ningún caso detalles respecto á la acción virulenta de estos cultivos, que no parece haber investigado; es una prueba que aguardamos para formar juicio sobre este punto.

En la saliva encontró igualmente Kreibohm el *bacillus crassus sputigenus,* muy parecido al *micrococcus Pasteuri*, y Biondi tres especies de *micrococcus* y un *bacillus,* cuya verdadera especie no se ha establecido rigurosamente. Investigaciones posteriores de Vignal demuestran que muchas especies de la boca tienen una acción digestiva sobre las diversas substancias alimenticias; es muy probable que se les deba referir una parte de los efectos determinados por la saliva sobre estas mismas substancias. La pululación excesiva de ciertas especies puede ocasionar desórdenes pronunciados. Miller hace desempeñar un gran papel, en la caries de los dientes, á bacterias que penetran en el interior de los canalículos dentarios. Para Galippe estos seres ocasionan con frecuencia irritaciones de la mucosa bucal, que pueden ocasionar la caída de los dientes; describió estas enfermedades con el nombre de *gingivite arthro-dental infecciosa.* Las bacterias filamentosas de la boca desempeñan probablemente un gran papel en la formación

del sarro dental; crecen en matas sobre los dientes, determinan en derredor de ellas, quizás por exhalación de ácido carbónico, la precipitación de las sales de cal de la saliva; se forma así una costra más ó menos dura, que puede adquirir un espesor bastante grande.

Se observan en el *estómago* varias bacterias de la boca que fueron arrastradas con los alimentos ó la saliva. En estado normal estos seres no pululan casi á causa de la acidez del jugo gástrico, bajo la influencia del cual muchos sucumben. En ciertos estados patalógicos las condiciones cambian, la reacción del jugo gástrico se vuelve á veces casi neutra, y pueden producirse estancaciones que favorecen el desarrollo de bacterias y la fermentación del contenido que es la consecuencia. Las bacterias son entonces abundantes; así es como la *sarcina del estómago* se encuentra á veces en cantidad considerable. En razón de las malas condiciones que han tenido y del poco tiempo que permanecen en el estómago, en estado normal, estas especies no parecen tener gran influencia sobre el contenido estomacal.

Las bacterias que habitan el *intestino* fueron principalmente estudiadas en las materias fecales. Bienstock aisló cinco especies de bacilos de los cuales dos son muy interesantes, el *bacillus Bienstockii*, que determina en los ratones una especie de septicemia, y el *bacillus albuminis*, uno de los agentes más enérgicos de la descomposición de las materias albuminoideas. En las deposiciones encontró también Bieger el *bacillus cavicida* que da ácido butírico á expensas de los azúcares. Escherisch estudió especialmente bajo este punto de vista las materias fecales de recién nacidos y de niños de teta, de ellas aisló dos especies interesantes, que luego volvió á encontrar en el contenido intestinal del hombre, el *bacillus coli communis* y el *bacillus lactis aerogenes*, ambos patógenos para los animales del experimento. Vignal aisló diez especies de las cuales unicamente dos se refieren á tipos seguramente determinados, el *bacillus coli communis* y el *bacillus mesentericus vulgatus;* no investigó la acción fisiológica de ninguna de las bacterias, sino que se ocupó exclusivamente de su acción sobre las materias alimenticias. Es en efecto muy probable que estas bacterias desempeñan un gran papel en modificaciones que convierten los alimentos en materias fecales. Las diastasas, á menudo poderosas, que segregan, añaden su acción á la de los fermentos digestivos; existe como anunciaba Duclaux hace algunos años, una verdadera *digestión bacteriana*, que actúa en el mismo sentido que la digestión fisiológica. A esta digestión operada por las bacterias comensales del intestino debiera también referirse la digestión de ciertas substancias, la celulosa en particular bajo su forma más asimilable, que ninguno de los fermentos solubles segregados por el organismo logra transformarla. Cuando hay una pululación excesiva de estas bacterias, á causa de modificaciones en el estado del intestino, puede producirse un estado de sufrimiento del órgano provocado quizás por la presencia de productos solubles perjudiciales. Lo mismo sucede cuando se pone á su disposición ciertas substancias con preferencia á otras. Así Miller, observó que estas bacterias del intestino, tomadas en masa, desarrollan una gran cantidad de gas en contacto con los hidratos de carbono; por el contrario, casi no se produce con la carne, el pescado, los huevos, el queso, la lechuga, las espinacas. De ahí pueden sacarse datos prácticos muy preciosos, aplicables seguramente á ciertos casos de dispepsia flatulenta, que dependen inmediatamente de una pululación excesiva de bacterias en el tubo intestinal.

El intestino encierra evidentemente especies anerobias, que no se han podido aislar todavía. El *vibrión séptico*, en particular debe encontrarse allí constantemente; es en efecto una de las bacterias más comunes en los cadáveres, cuando la putrefacción no ha adelantado todavía; es muy probable que puede penetrar en los cuerpos al momento después de la muerte é invadir rapidamente, no deteniéndose por las células vivas del epitelio intestinal.

Experimentos recientes de Straus y de Dubreuil demostraron perfectamente que el aire expirado carece completamente de gérmenes; los que tenía en suspensión antes de la pirni-

ración han permanecido pues en las vías aéreas. El aire recorriendo en los pulmones todo este sistema de canales estrechos y de paredes húmedas, revestidas de una capa de mucus viscoso, se despoja de todos estos corpúsculos en suspensión, en particular de las bacterias; la proporción que sale es muy mínima con relación á la que entra; 1 por 609 según Straus. Esos gérmenes permanecen adheridos á las paredes de los conductos bronquicos durante cierto tiempo, luego desaparecen, destruídos por la misma actividad de las células epiteliales ó arrastrados por la expectoración. Así es como las especies patógenas, los *micrococcus de la neumonia* entre otros, pueden llegar hasta el pulmón y determinar allí su proceso mórbido, y esto con tanta más facilidad cuanto que sabemos que existen normalmente en la boca. Sin embargo para que se produzca la acción patógena precisan sin duda condiciones particulares en la disposición del organismo y aun un estado especial de la materia virulenta; experimentos de Cadeac y Malet demuestran en efecto, que la inhalación de polvo seco que encierre *bacillus tuberculosos* rara vez da la tuberculosis, mientras que la introducción en el aparato respiratorio de estas mismas bacterias mezcladas con líquidos causan constantemente una tuberculosis pulmonar.

Las *vias génito-urinarias,* que están en comunicación directa con el exterior, encierran también bacterias en estado normal. Estas especies comensales parecen completamente inofensivas; podría suceder sin embargo, que á causa de las modificaciones patológicas de los órganos y de cambios consecutivos de la calidad y cantidad de las secreciones, una especie pululase hasta el extremo de volverse perjudicial. Así es como, en la vejiga, el *micrococcus ureæ* no ocasiona la fermentación amoniacal de la orina sino cuando encuentra en este líquido grandes proporciones de mucus, segregados por la mucosa inflamada; en estado normal esta bacteria ni llega á desarrollarse.

Bumm aisló del pus blenorrágico varias especies que no parecen tener ninguna relación con esta enfermedad contagiosa y que se encuentran probablemente en el canal de la uretra en estado normal. Son efectivamente bacterias que se encuentran constantemente en todos los derrames de la uretra, cualquiera que sea su naturaleza; los *micrococcus subflavus*, *micrococcus albicans amplus* y *micrococcus citreus conglomeratus* son los principales.

Lustgarten y Mannaberg sólo estudiaron las bacterias de la uretra completamente normal, obtenidas ya en el mismo canal uretral, ya en la orina desde su emisión. Dos especies comunes fueron observadas, el *micrococcus pyogenes aureus* y el *micrococcus subflavus*. Otras diez, desgraciadamente descritas de un modo insuficiente, cuatro bacilos y seis *micrococcus*.

Las bacterias de los órganos genitales de la mujer fueron investigadas por Bumm. Da como normal en el mucus vaginal, el *micrococcus lacteus faviformis,* que encontró también en el mucus uterino. Se obtiene fácilmente de esta misma secreción los *micrococcus subflavus*, *micrococcus albicans amplus* y *micrococcus pyogenes albus*, pero solamente quizás cuando hay una ligera inflamación de la mucosa. No se sabe si se encuentran bacterias en el utérus normal; Straus y Toledo concluyeron de investigaciones sucesivas, que, en los animales después de la parturación fisiológica, la pared uterina y la secreción en ella contenida no encierran bacterias. Las partes genitales externas, sobre todo los pliegues de la valva en donde se amasan los restos epiteliales, suministran gran número de bacterias que viven como saprofitas y no pueden considerarse como especiales; probablemente deben encontrarse las mismas especies que sobre la piel cercana.

FIN

ÍNDICE

Págs.

Prólogo. 1

CAPÍTULO PRIMERO

Polvo y enfermedades. 3
§ 1.—Experimentos sobre las materias en suspensión en el aire.. 3
§ 2.—La teoría de los gérmenes en las enfermedades contagiosas.. 6
§ 3.—Enfermedades parasitarias de los gusanos de seda.—Trabajos de Pasteur. . . . 7
§ 4.—Origen y propagación de la materia contagiosa. 11
§ 5.—La teoría de los gérmenes aplicada á la cirugía. 13
§ 6.—El rayo luminoso como medio de investigación de las materias suspensas en el aire. 16
§ 7.—Experimentos opuestos á la teoría de los gérmenes. 17

CAPITULO II

Estado óptico de la atmósfera en relación con la putrefacción y la infección. 23
§ 1.—Introducción.. 23
§ 2.—Método de experimento. 25
§ 3.—Modo de acción sobre la orina. 26
§ 4.—Infusión de carne. 27
§ 5.—Id. de carne de vaca. 28

Págs.

§ 6.—Id. de gado. 28
§ 7.—Id. de nabo. 29
§ 8.—Id. de heno. 32
§ 9.—Id. de sollo. 33
§ 10.—Id. de hígado. 33
§ 11.—Infusiones de liebre, conejo, faisán y pollo.. 34
§ 12.—Infusiones de salmón, de lúpulo, té y café. 35
§ 13.—Infusiones de bacalao, rodaballo, arenque y mujol. 36
§ 14.—Infusión de gallina y de riñones. . . 36
§ 15.—Ebullición por un manantial interno de calor. 37
§ 16.—Discusión parcial de los resultados. . 37
§ 17.—Partículas en suspensión en el aire y en el agua. 39
§ 18.—Experimentos recientes sobre la heterogénesis. 42
§ 19.—Experimentos practicados con aire filtrado.. 43
§ 20.—Experimentos con aire calcinado. . . 44
§ 21.—Experimentos en el vacío. 45
§ 22.—La teoría de los gérmenes en las enfermedades contagiosas.. 46
§ 23.—Experimentos hechos con vasos herméticamente cerrados. 47
§ 24.—Condiciones relativas á la temperatura y fuerza de las infusiones. 49
§ 25.—Poder de desarrollo de las infusiones

Págs.

y soluciones: gérmenes del aire comparados con los del agua. 50
§ 26.—Distribución de los gérmenes en el aire. 53
§ 27.—La caja de cien tubos.. 55
§ 28.—Algunos experimentos de Pasteur.—Su relación con las nubes de bacterias. . . 60
§ 29.—Acción de las bacterias sobre un rayo luminoso. 62
§ 30.—Fluorescencia de las infusiones. . . 63

CAPÍTULO III

NUEVAS INVESTIGACIONES ACERCA LA NATURALEZA Y LA VITALIDAD DE LOS ORGANISMOS DE LA PUTREFACCIÓN. 64
§ 1.—Introducción. 64
§ 2.—Experimentos de Pasteur, Roberts y Cohn.. 66
§ 3.—Infusiones de heno.—Experimentos preliminares con tubos-pipetas. 67
§ 4.—Infusión de heno.—Experimentos con los tubos de Cohn. 69
§ 5.—Infusiones de heno en vasos cerrados. . 70
§ 6.—Desecación de los gérmenes.—Heno fresco y heno viejo. 71
§ 7.—Infusiones de heno.—Nuevos experimentos con las cámaras herméticamente cerradas. 72
§ 8.—Experimentos con heno mojado.. . . 74
§ 9.—Infusiones de setas. 76
§ 10.—Id. de cohombro, remolacha, etc.. . 77
§ 11.—Nuevos experimentos sobre infusiones animales.—Resultados contradictorios. . . 79
§ 12.—Infusiones protegidas por medio de campanas de cristal conteniendo aire calcinado. 81
§ 13.—Nuevas precauciones contra la infección. 82
§ 14.—Experimentos en el jardín real de Kew. 84
§ 15.—Experimentos efectuados sobre el tejado de la Institución Real.. 85
§ 16.—Experimentos preliminares acerca de el límite de resistencia de los gérmenes á la temperatura del agua en ebullición. . . 87
§ 17.—Nuevos experimentos acerca de el límite de resistencia de los gérmenes á la temperatura de ebullición. 88
§ 18.—Cambio de aparato.—Nuevas experiencias con el aire filtrado. 90
§ 19.—Prueba final de que los gérmenes resistentes están contenidos en la infusión.—

Págs.

Ejemplos de resistencia á la vez en los líquidos ácidos y en los neutros. 93
§ 20.—Observaciones acerca las infusiones ácidas, neutras y alcalinas. 97
§ 21.—Observaciones acerca las diferencias que han de establecerse entre los gérmenes de las bacterias y las propias bacterias. . . 98
§ 22.—Esterilización por medio del calentamiento discontinuo. 100
§ 23.—Mortalidad de los gérmenes por medio de la falta de oxígeno, extraído por el vacío hecho con una bomba de Sprengel. . . . 104
§ 24.—Mortalidad de los gérmenes á causa de la falta de oxígeno por la ebullición de las infusiones. 106
§ 25.—Revista crítica de los dos párrafos precedentes.. 108
§ 26.—Mortalidad de los gérmenes conteniendo un exceso de oxígeno. 109
§ 27.—Experimentos con los orines neutralizados.. 110
§ 28.—Frascos herméticamente cerrados expuestos al sol, en los Alpes. 112
§ 29.—Observaciones acerca los cierres herméticos. 113
§ 30.—Experimentos con infusiones de nabo y queso mezcladas. 113
NOTA A.—Acerca las propiedades de los orines alcalinizados. 115
NOTA B.—Carta al profesor Huxley á propósito del método de calefacción discontinua. 116

CAPÍTULO IV

DE LA FERMENTACIÓN Y SUS RELACIONES CON LA CIRUGÍA Y LA MEDICINA. 118

CAPÍTULO V

LA GENERACIÓN ESPONTÁNEA. 138

CAPÍTULO VI

EXPERIMENTOS PRESENTADOS Á LA SOCIEDAD REAL DE LONDRES. 160

CAPÍTULO VII

ESTUDIO DE LAS BACTERIAS EN GENERAL. . . . 169

CAPÍTULO VIII

MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN; INSTRUMENTOS; CULTIVOS; PREPARACIÓN Y ESTUDIO MICROSCÓPICO.. 177

Págs.

CAPÍTULO IX

Desarrollo de los cultivos y modificación de los medios ambientes. 189

CAPÍTULO X

Clasificación y descripción bacteriológicas.. 194

CAPÍTULO XI

Especies patógenas. 199

CAPÍTULO XII

Especies cromógenas y fermentos.. 232
Especies fermentos ó de acción indiferente. . . 236

CAPÍTULO XIII

Cocáceas.—Géneros «sarcina, leuconostoc y ascococcus». 240
§ 1.—Género *sarcina*. 240
§ 2.—Id. *leuconostoc*. 244
§ 3.—Id. *ascococcus*.. 246

Págs.

CAPÍTULO XIV

Bacteriáceas.—Género «bacillus».. 247
§ 1.—Género *bacillus*. 248
Especies patógenas. 249
Id. cromógenas.. 300
Id. fermentos ó de acción indiferente.. . 307

CAPÍTULO XV

Bacteriáceas.—Géneros «spirillum, leptothrix y cladothrix». 329
§ 1.—Género *spirillum*. 329
§ 2.—Id. *leptothrix*. 342
§ 3.—Id. *cladothrix*. 343

CAPÍTULO XVI

Beggiatoáceas. 345
§ 1.—Género *beggiatoa*. 346
§ 2.—Id. *crenothrix*.. 349

CAPÍTULO XVII

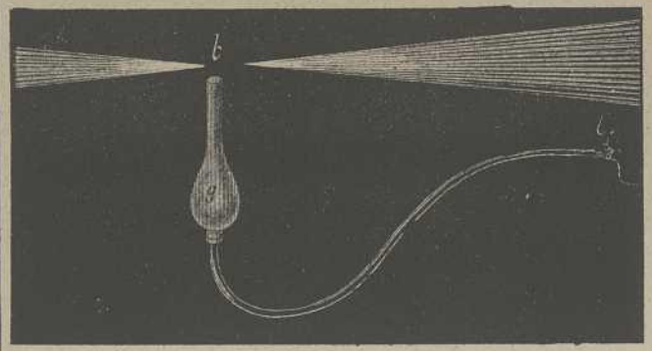
Estudio especial de algunos medios. 351
§ 1.—Bacterias del aire. 351
§ 2.—Id. del agua. 356
§ 3.—Id. del suelo. 364
§ 4.—Id. del cuerpo. 367

AVISO AL ENCUADERNADOR

Cada una de las láminas, comprende varias figuras por orden numérico. Por tanto dichas láminas se pondrán al final del tomo según el número que llevan.

MICROBIOLOGIA

Fig. 1



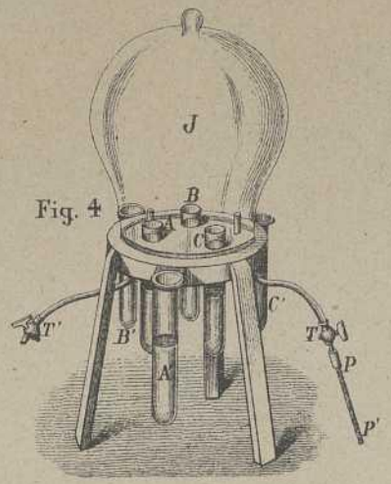


Fig. 4

Fig. 7

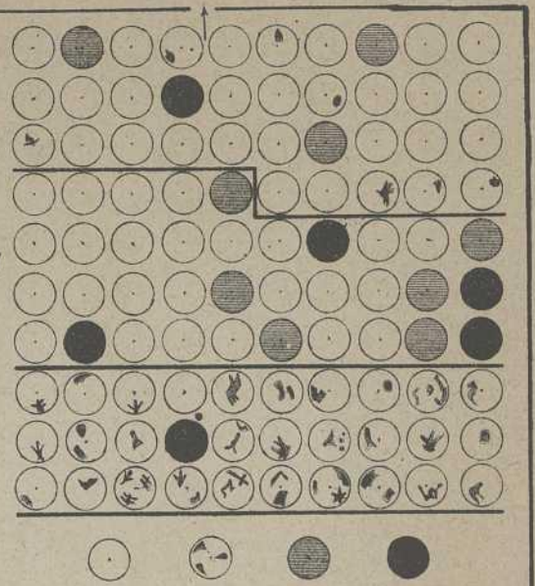


Fig. 5

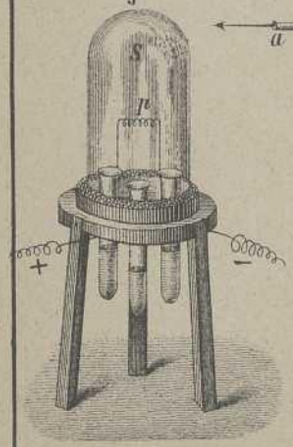


Fig. 3

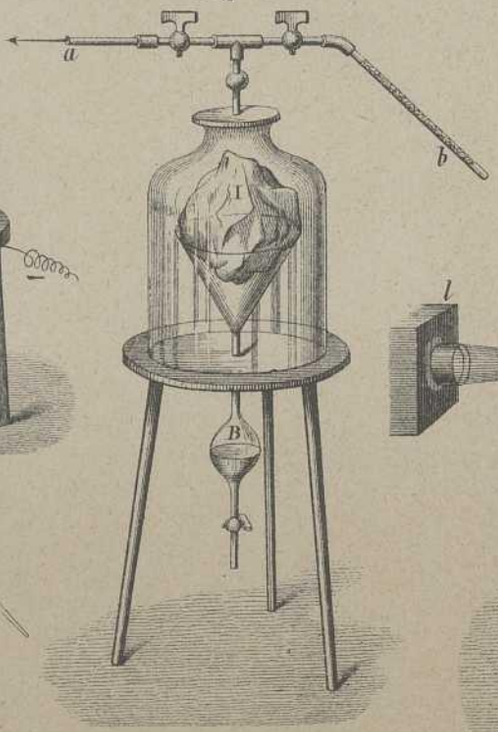


Fig. 2

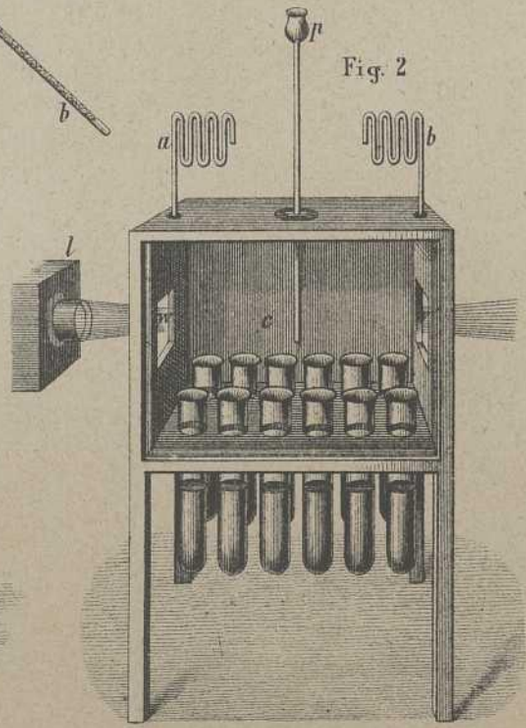
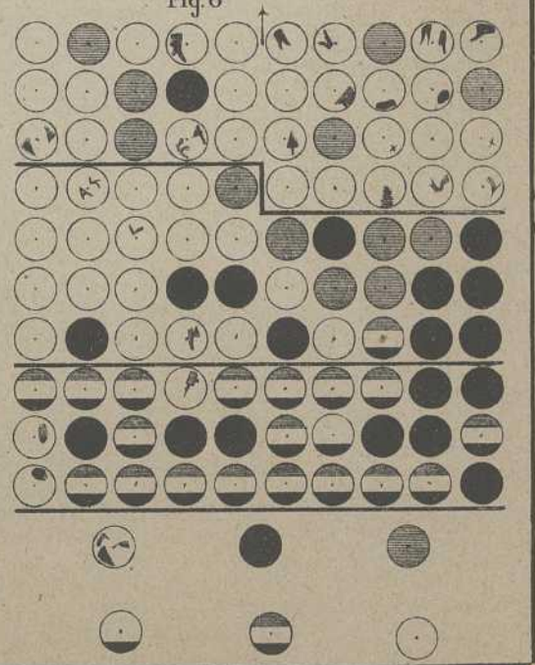


Fig. 8



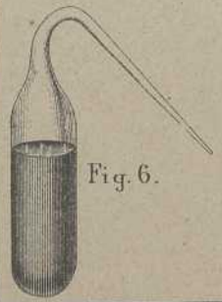


Fig. 6.

Tip. lit. de F. Nacente, editor.

LÁMINA 1.ª

Fig. 9

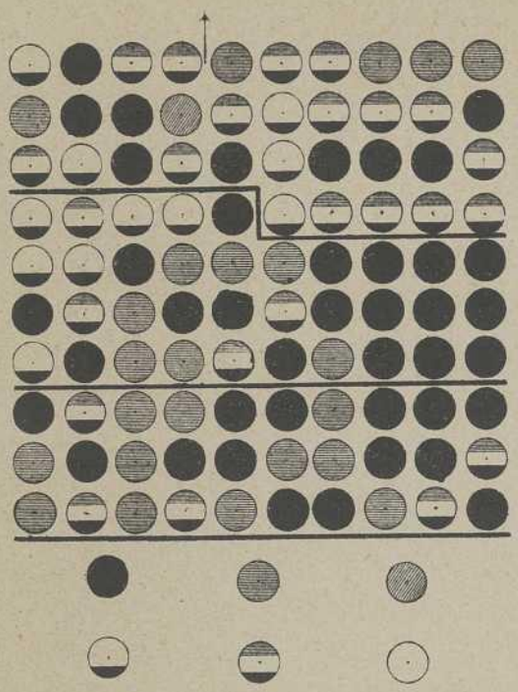


Fig. 13

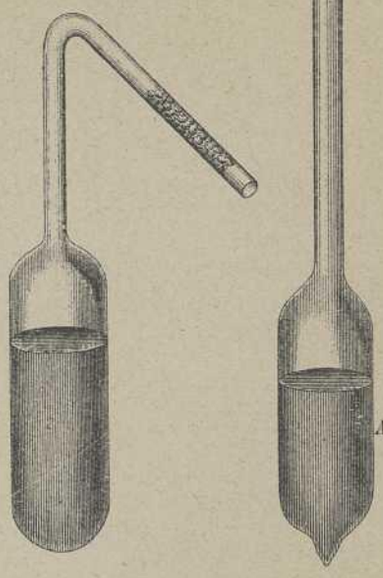


Fig. 12

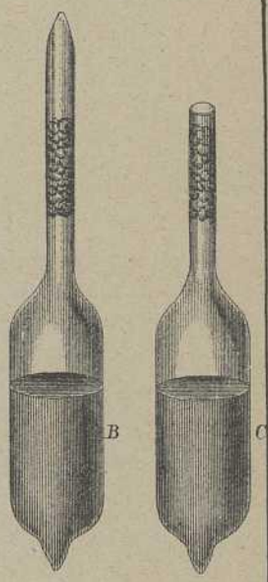
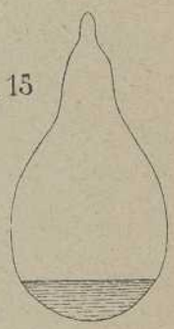


Fig. 15



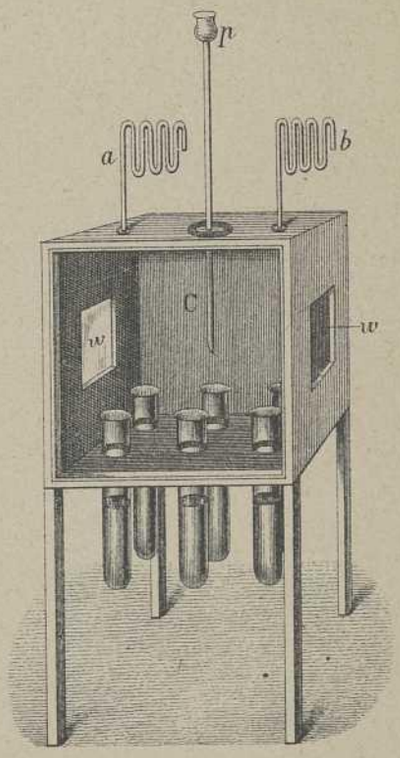
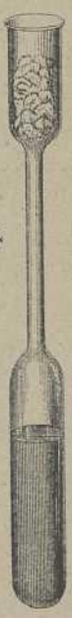


Fig. 11

Fig. 14



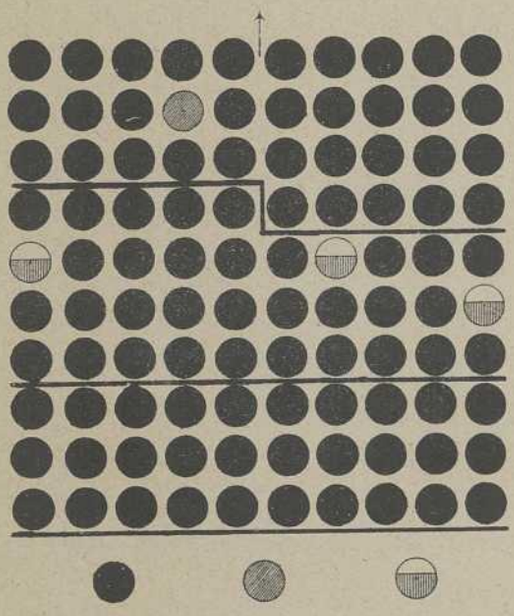
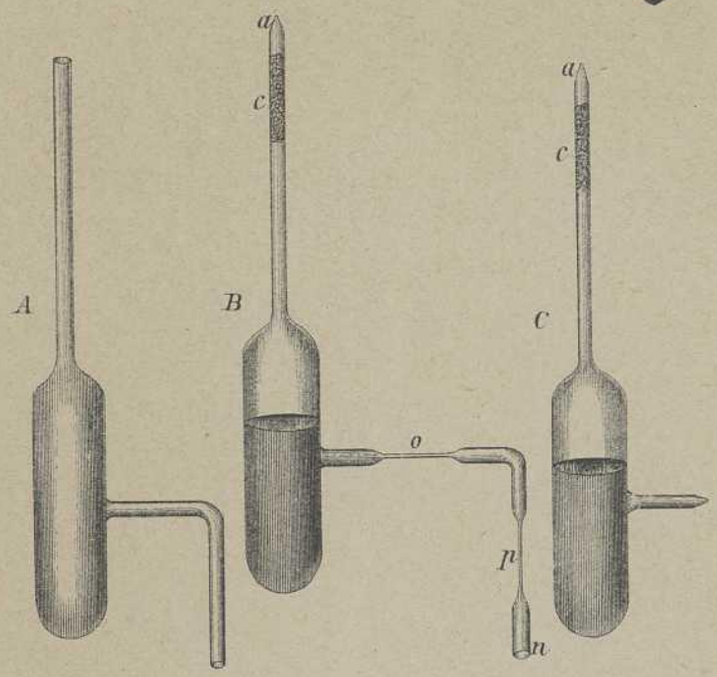


Fig. 10

Tip. y lit. de F. Nacente, editor.

Fig. 18



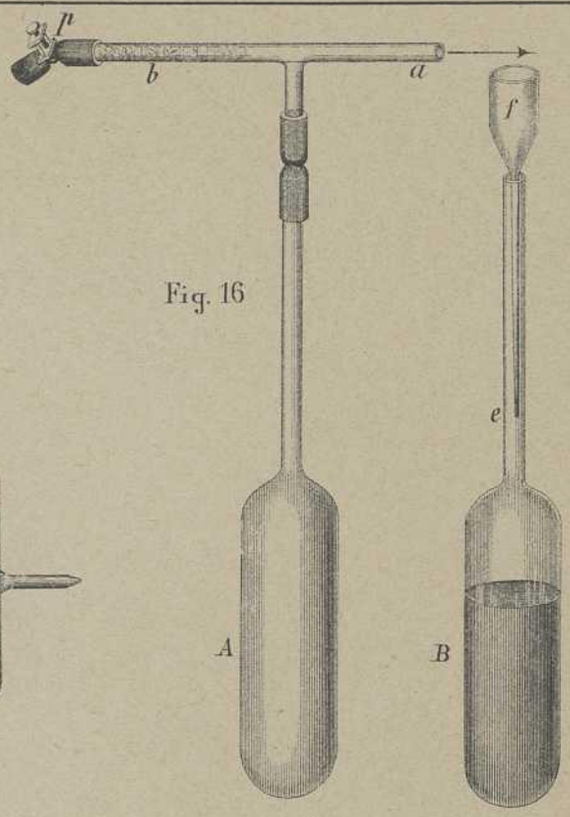
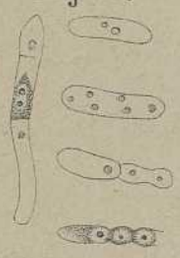


Fig. 16

Fig. 22.



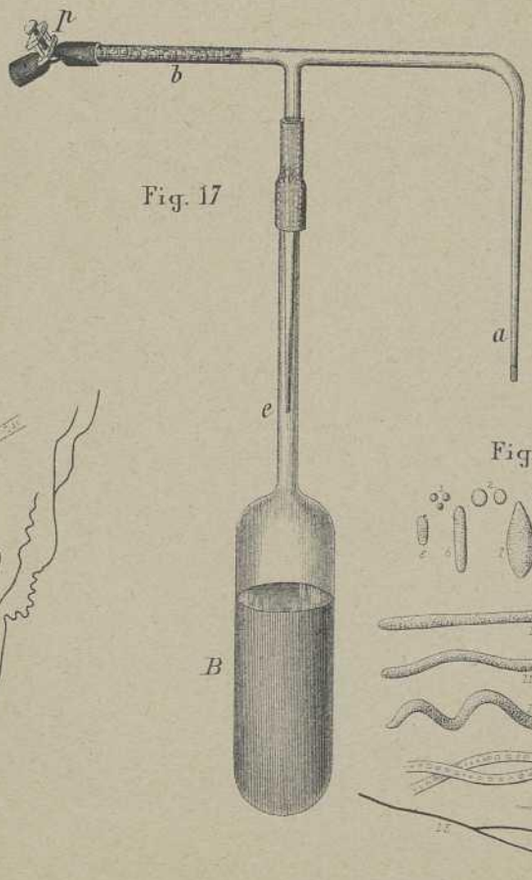


Fig. 17

Fig. 19



Fig. 21

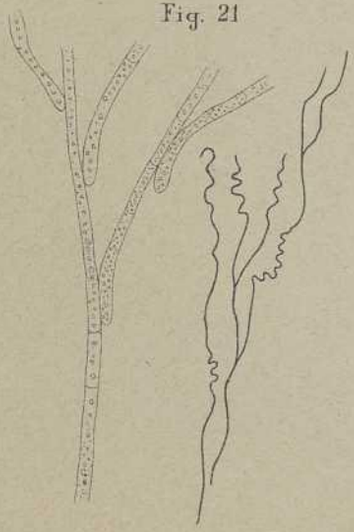


Fig. 20

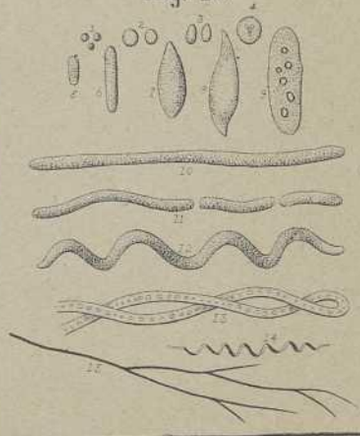


LÁMINA 3.ª

Tip. lit. de F. Nacente, editor.

Fig. 23

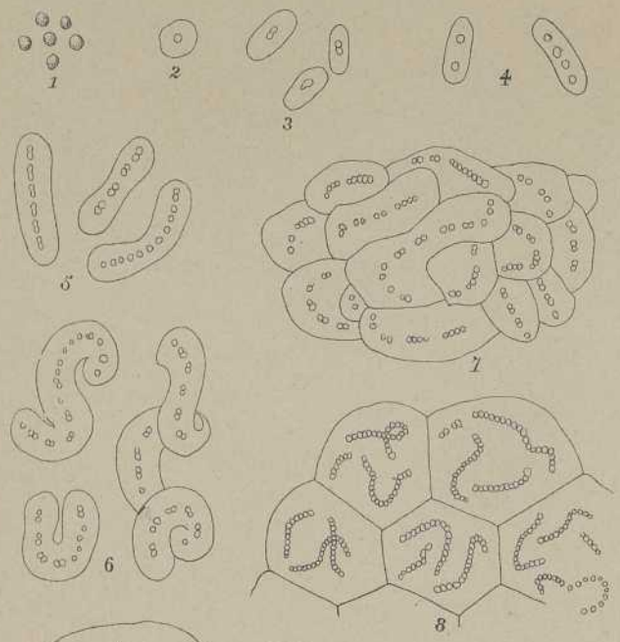


Fig. 24

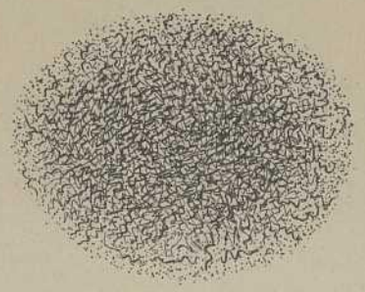


Fig. 25

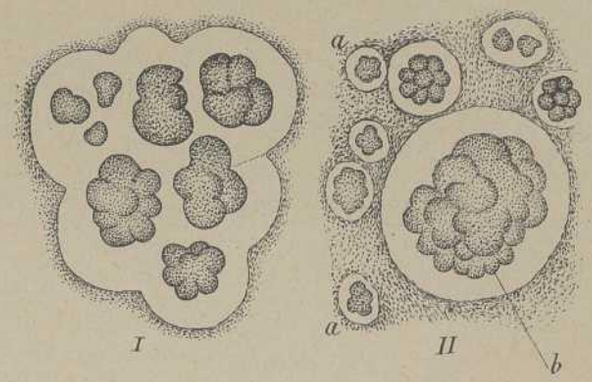


Fig. 29

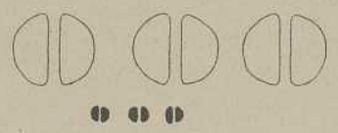


Fig. 30

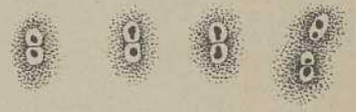


Fig. 26

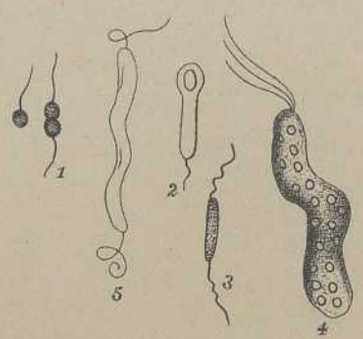


Fig. 31

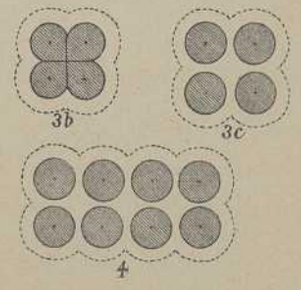


Fig. 27

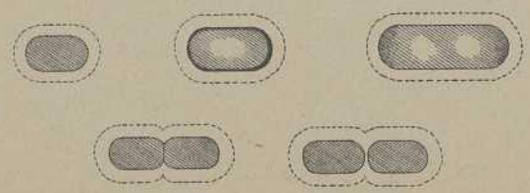


Fig. 32

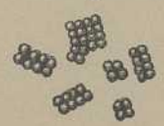
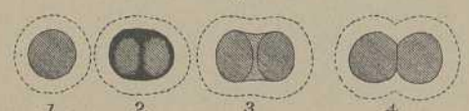


Fig. 28



J. Roma. Editor.

Bruch 89 y 91.

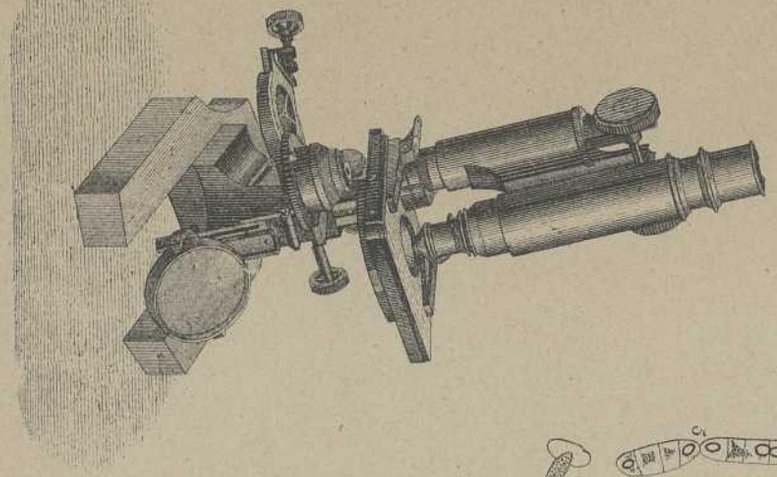
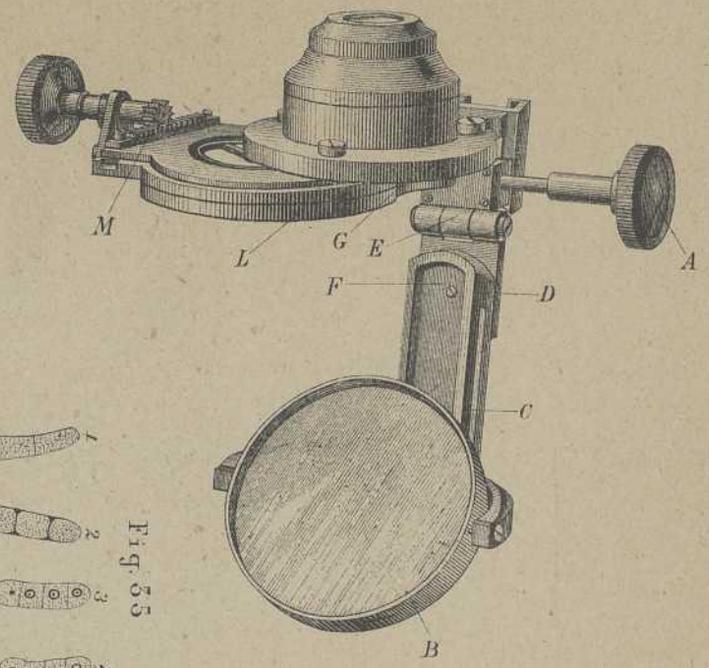


Fig. 37

Fig. 39



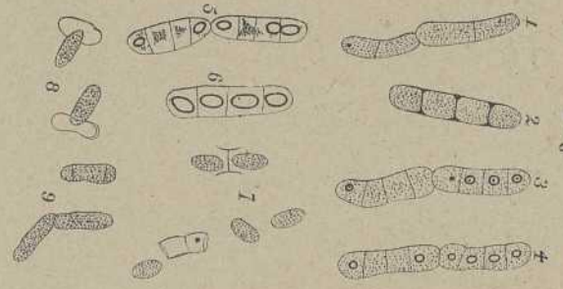


Fig. 35

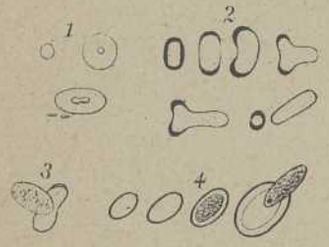


Fig. 34

Fig. 33

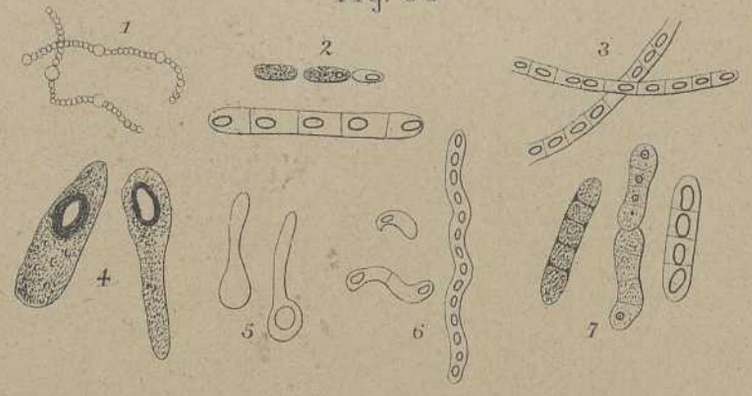


Fig. 36

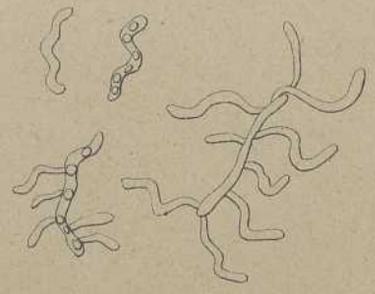
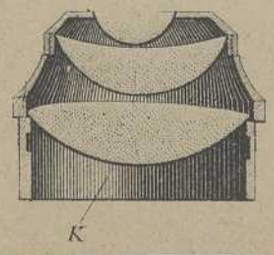


Fig. 38



Tip. lit. de F. Nacente, editor.

Fig. 40

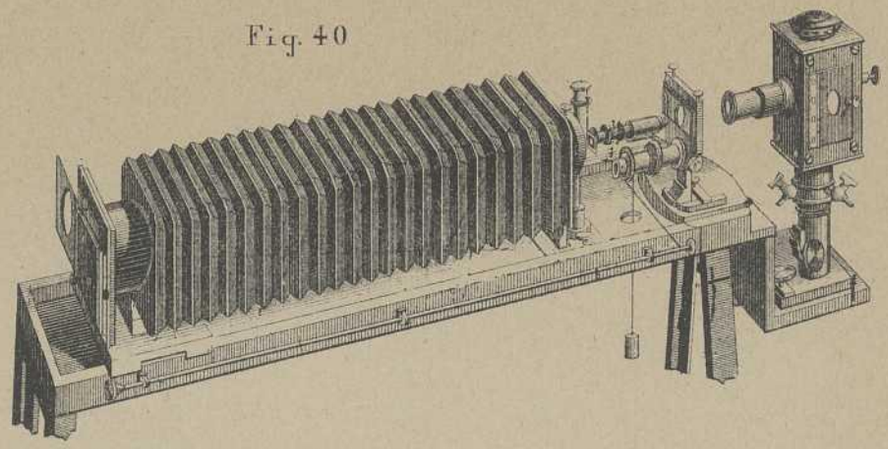


Fig. 43

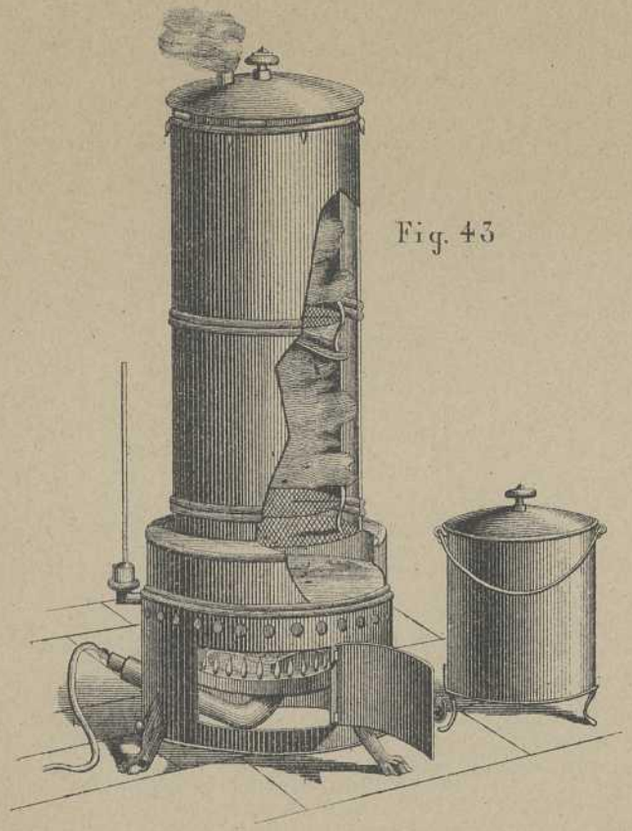


Fig. 42

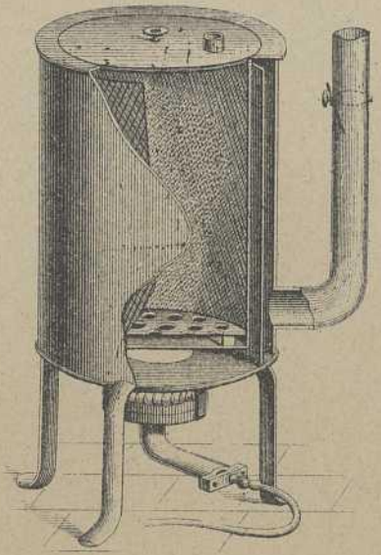


Fig. 44

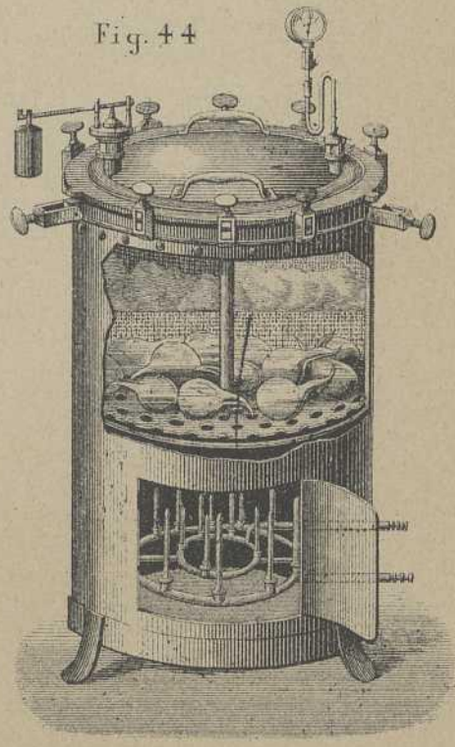


Fig. 41

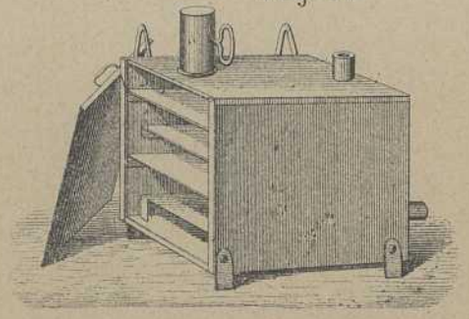


LÁMINA 6.ª

Tip. lit. de F. Nacente, editor.

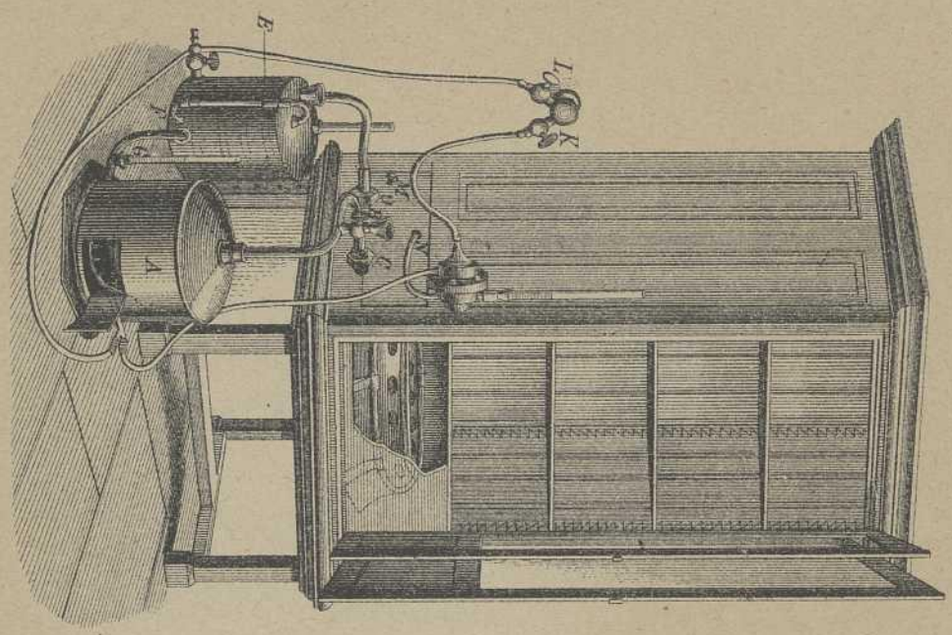


Fig. 46

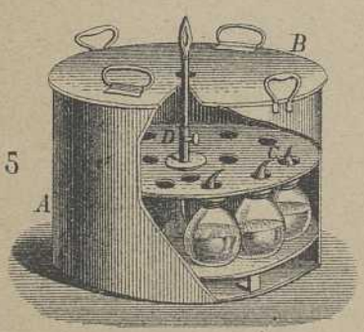


Fig. 45

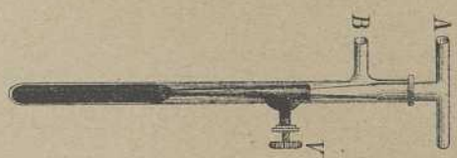
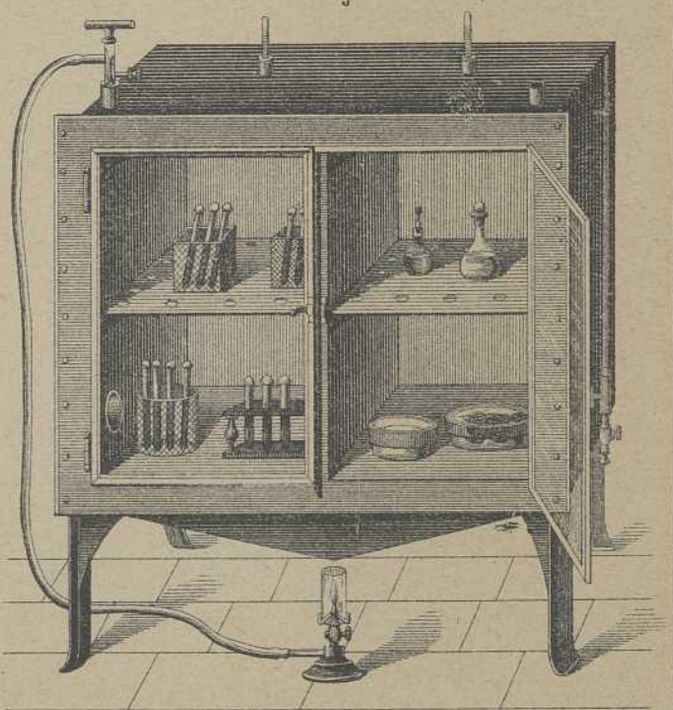


Fig. 49

Fig. 48



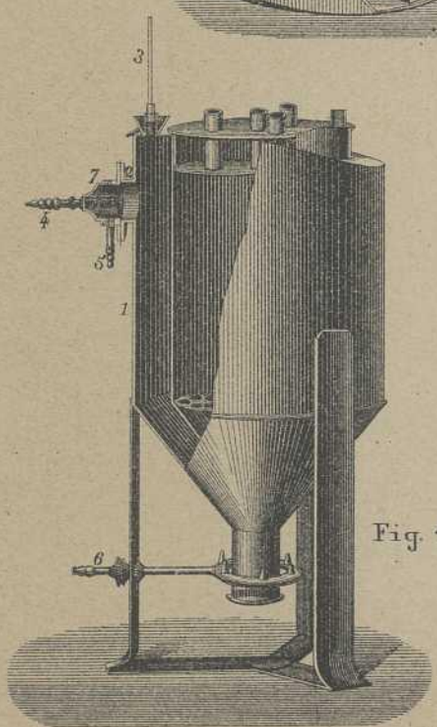


Fig. 47

Tip. lit. de F. Nacente, editor.

Fig. 50

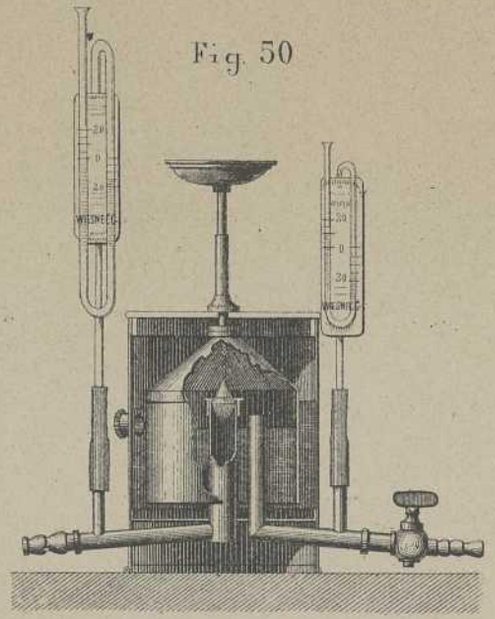


Fig. 53

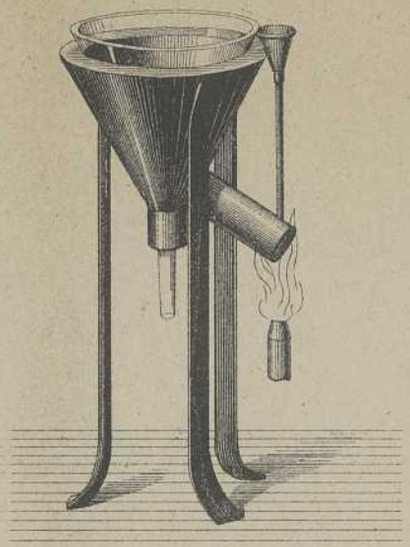


Fig. 52

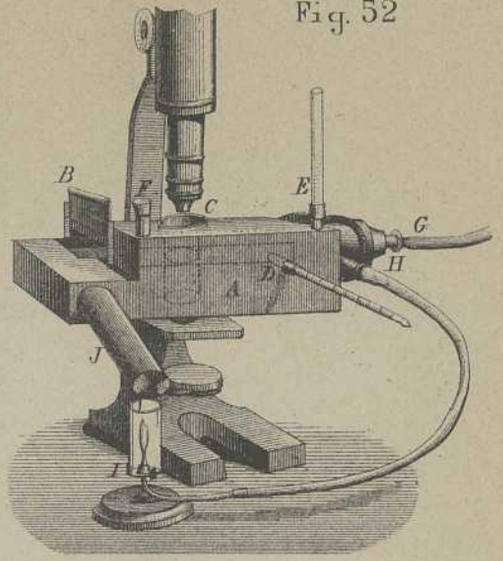


Fig. 54

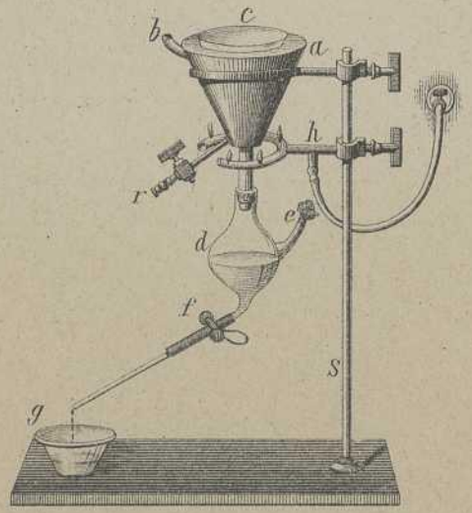


Fig. 55

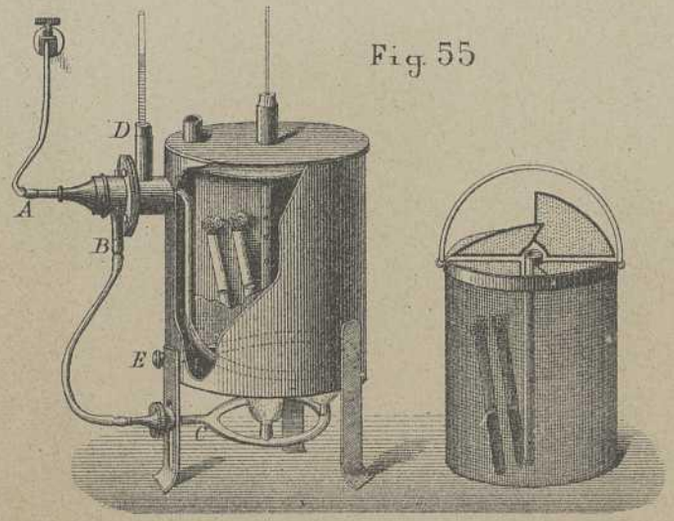


Fig. 51

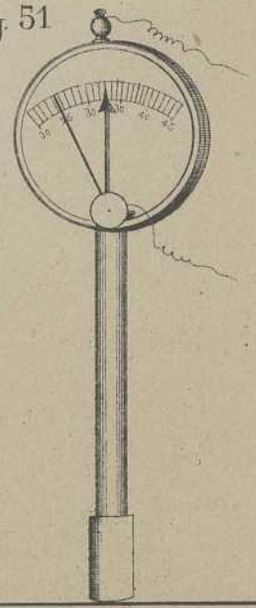


LÁMINA 8.ª

Tip. lit. de F. Nacente, editor.

Fig. 58

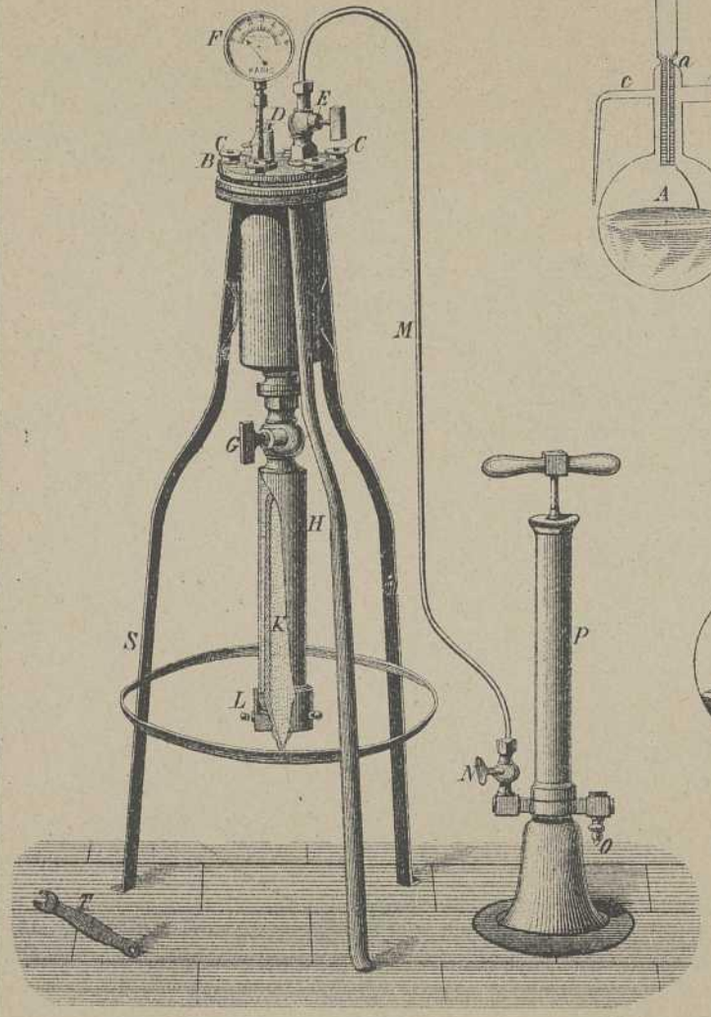


Fig. 59

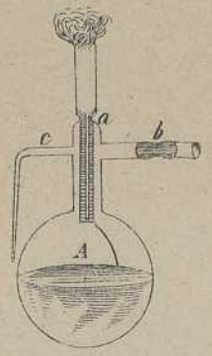


Fig. 64

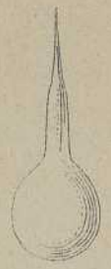


Fig. 61

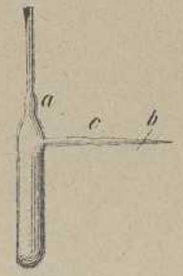


Fig. 57

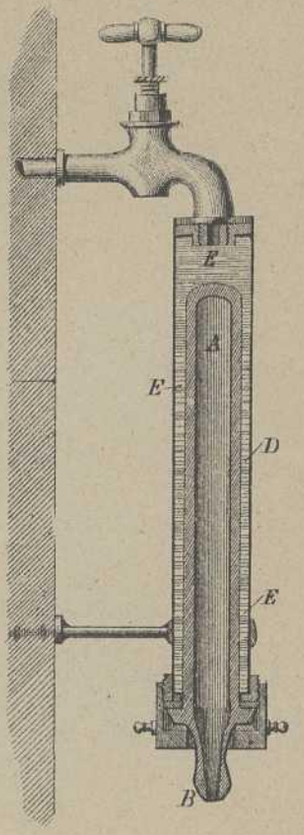


Fig. 63

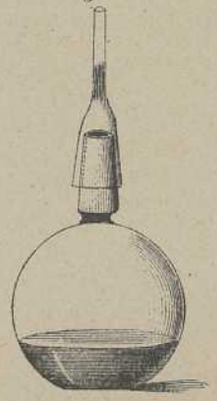


Fig. 60



Fig. 65

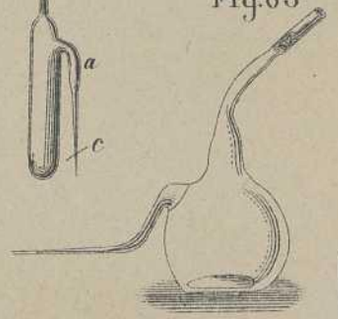


Fig. 56

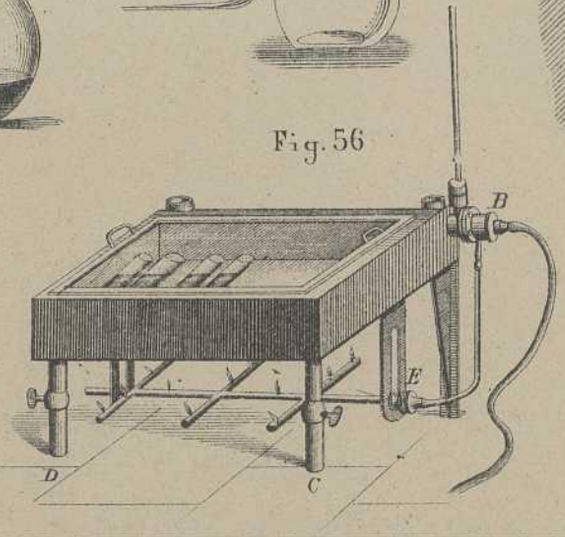


Fig. 62

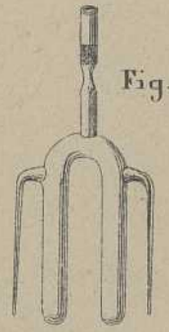


LÁMINA 9.ª

Tip. lit. de F. Nacente, editor.

Fig. 67

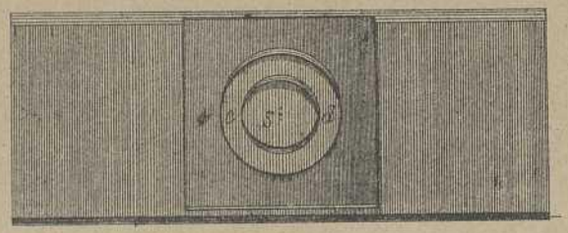


Fig. 71



Fig. 73

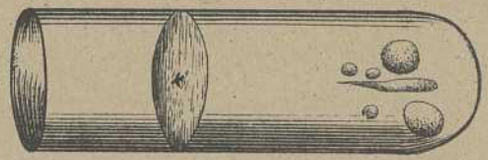


Fig. 72

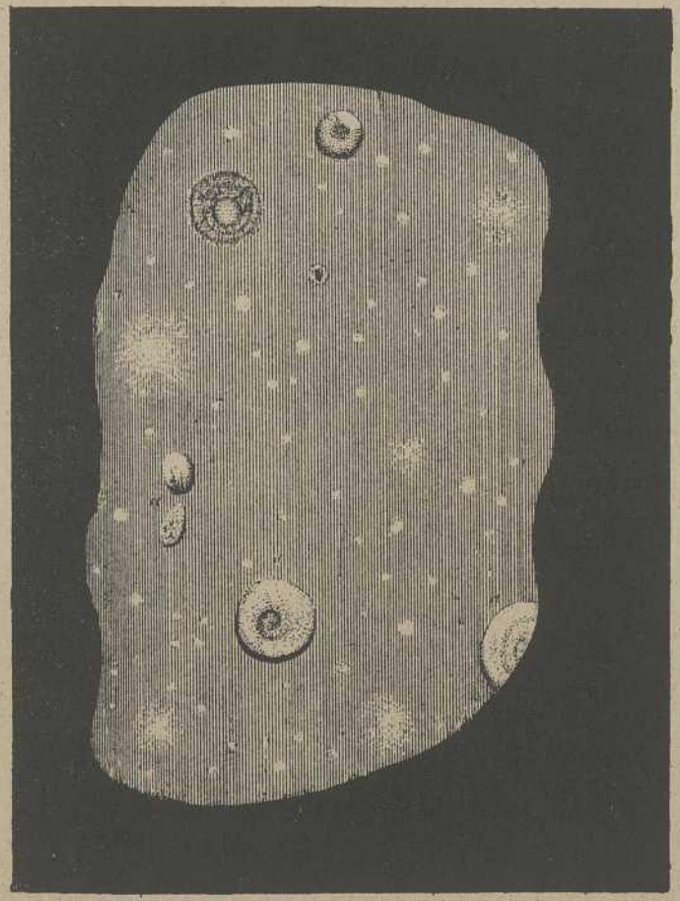


Fig. 66

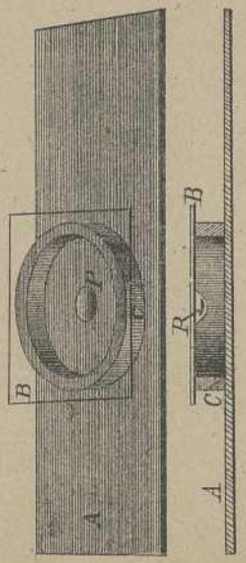


Fig. 68

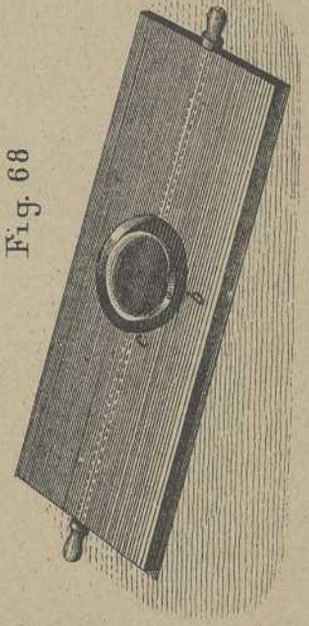


Fig. 69

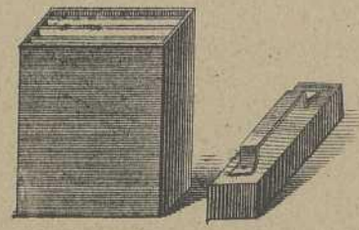
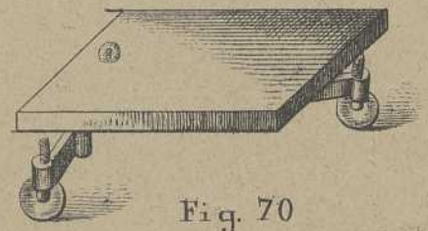


Fig. 70



Tip. lit. de F. Nacente, editor.

MICROBIOLOGIA

Fig. 74

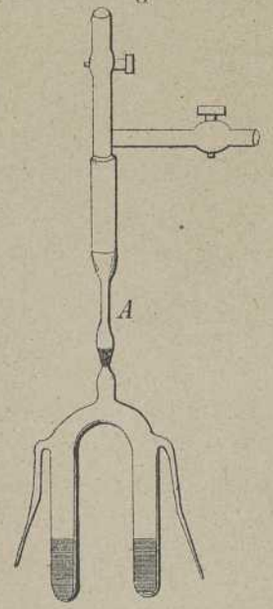


Fig. 76



Fig. 75

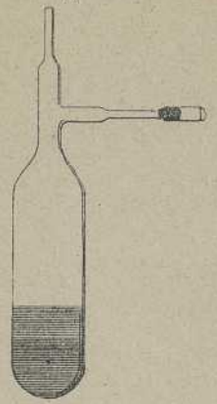


Fig. 79



Fig. 78

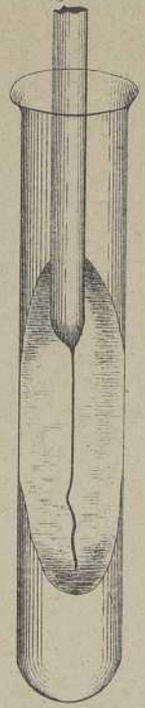


Fig. 84



Fig. 80

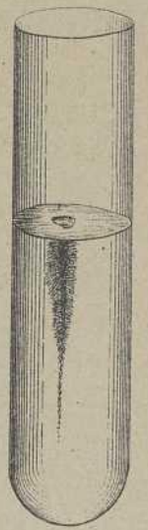




Fig. 81

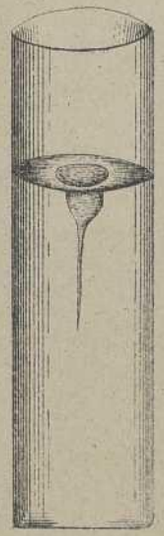


Fig. 82



Fig. 83



Fig. 85

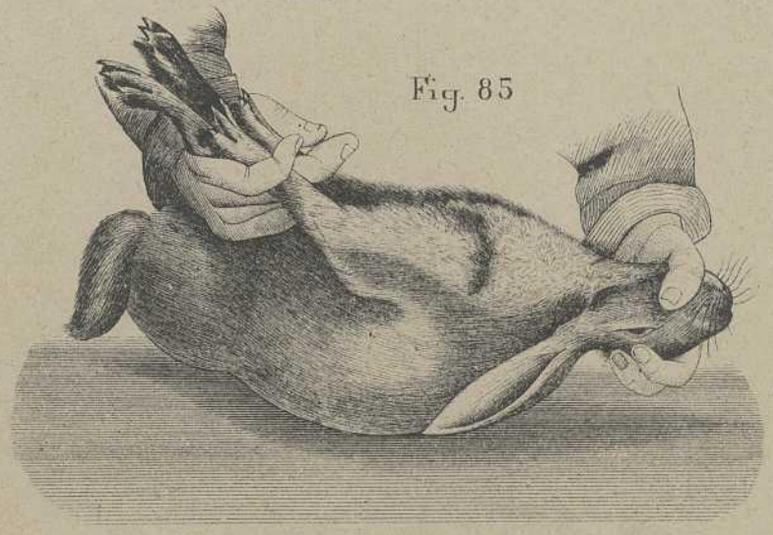


Fig. 77



Tip. lit. de F. Nacente, editor.

LÁMINA 11

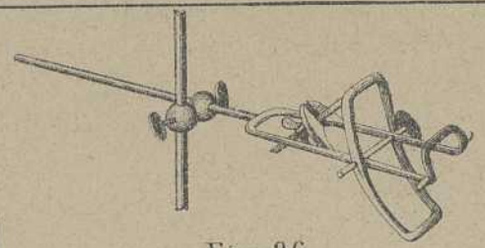


Fig. 86

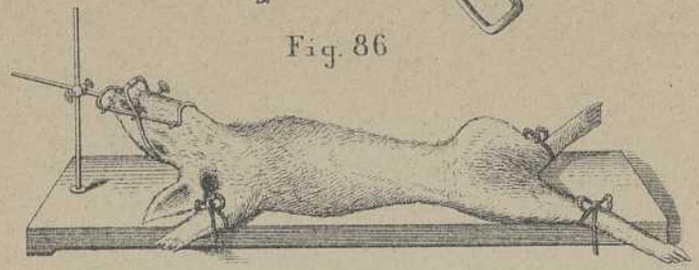


Fig. 87

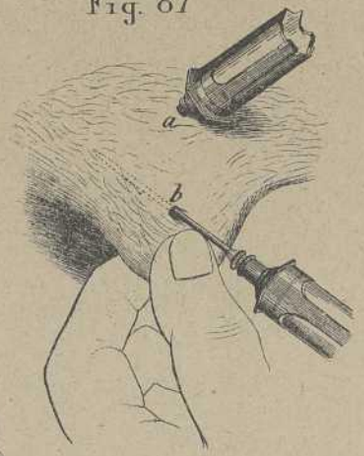


Fig. 88

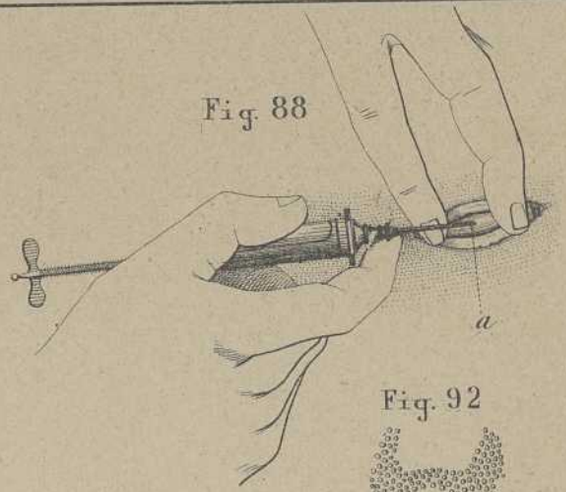


Fig. 92



Fig. 90

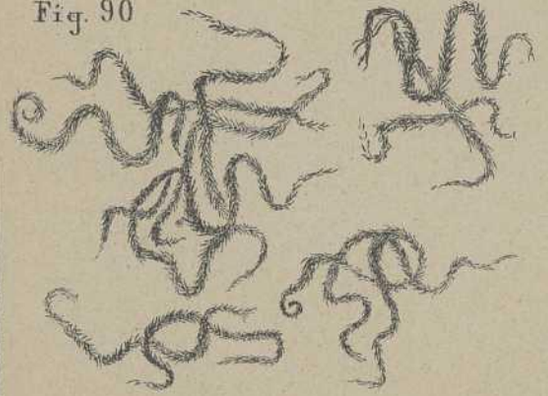
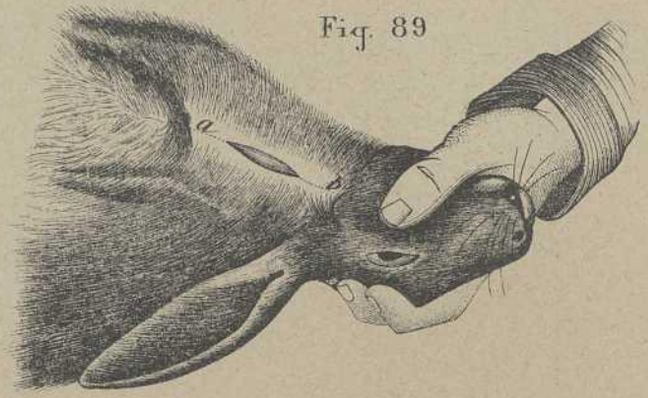


Fig. 89



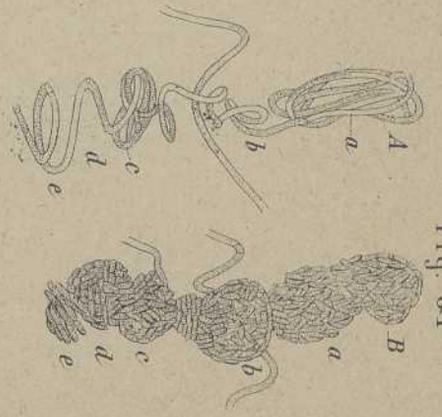
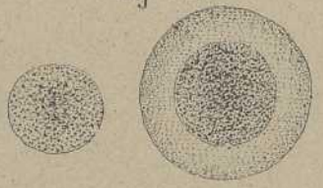


Fig. 91



Fig. 93

Fig. 94





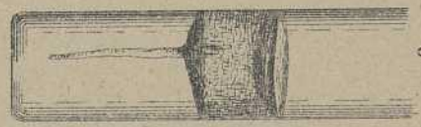


Fig. 95

Tip. lit. de F. Nacente, editor.

Fig.96



Fig. 97



Fig. 98

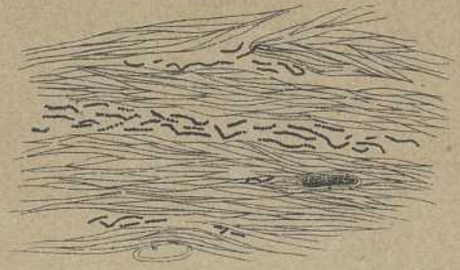


Fig.99

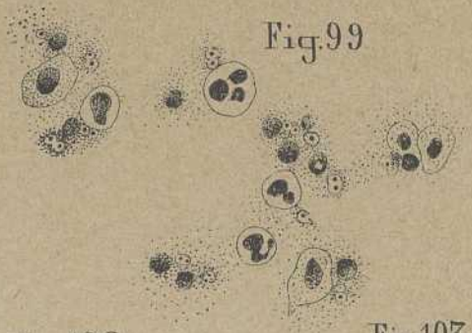


Fig.100



Fig.101

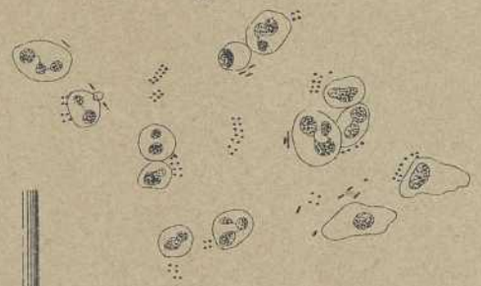


Fig.102

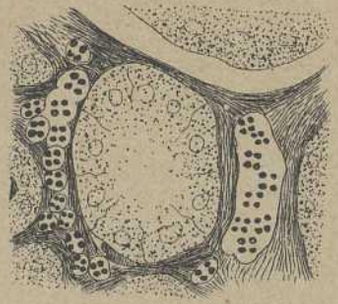


Fig.103

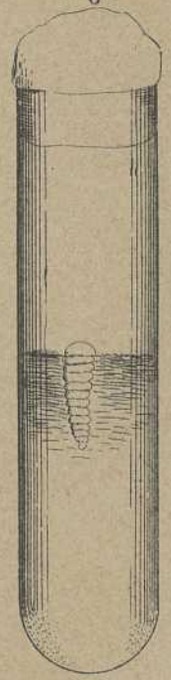


Fig.105

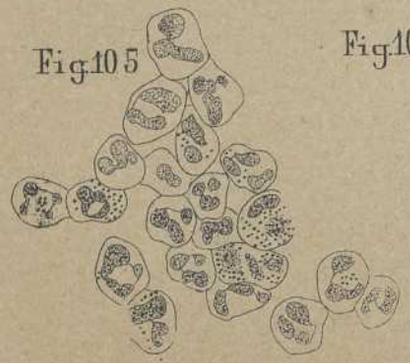


Fig.107



Fig.110

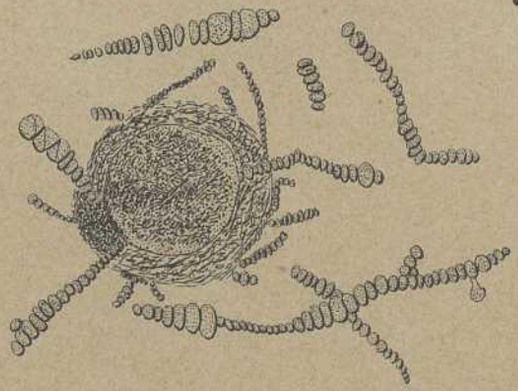


Fig.104

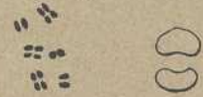


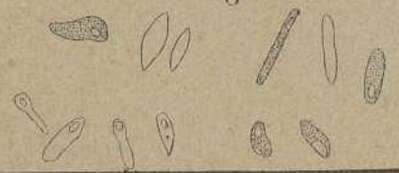
Fig.108



Fig.106



Fig.109



Tip. lit. de F. Nacente, editor.

Fig. 111

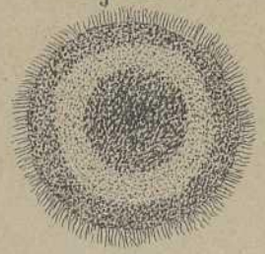


Fig. 112

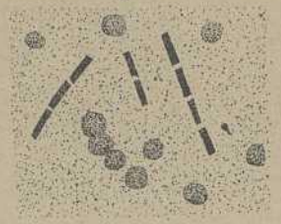


Fig. 113

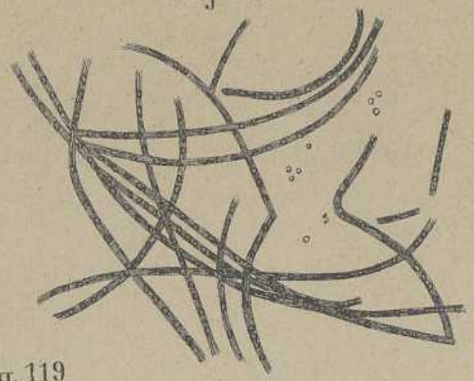


Fig. 114



Fig. 115



Fig. 116



Fig. 117



Fig. 118



Fig. 119



Fig. 120

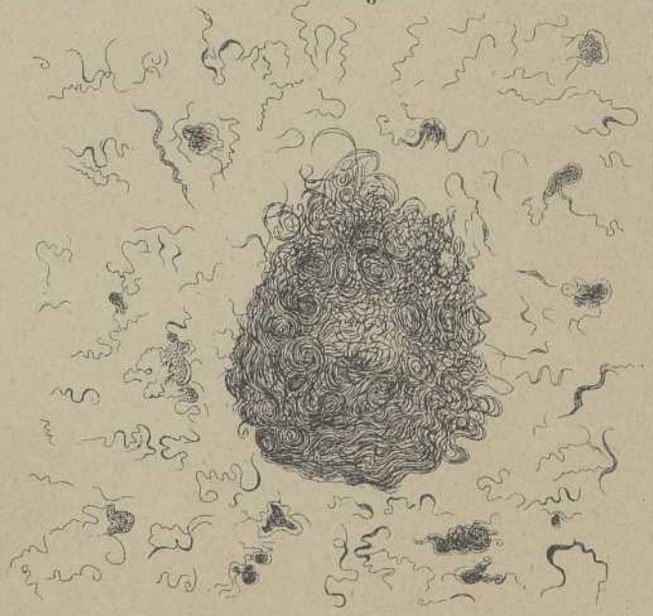


Fig. 121

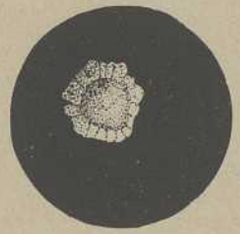


Fig. 122

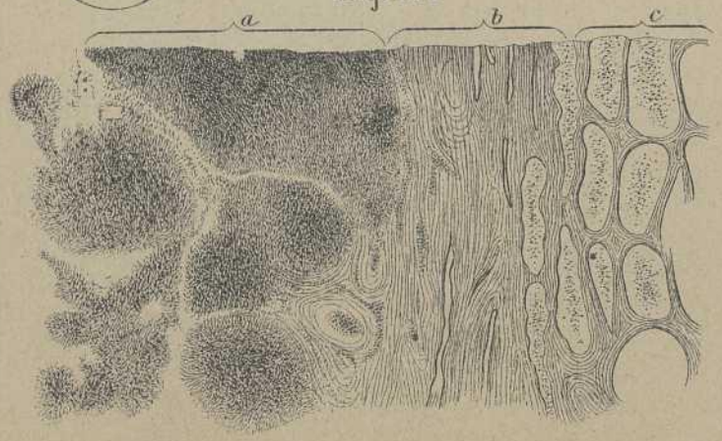


Fig. 123

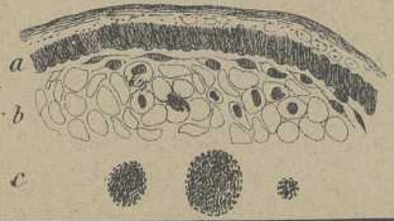


Fig. 124



Fig. 125

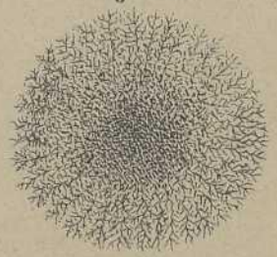


Fig. 126



Tip. lit. de F. Nacente, editor

LÁMINA 14

Fig. 137

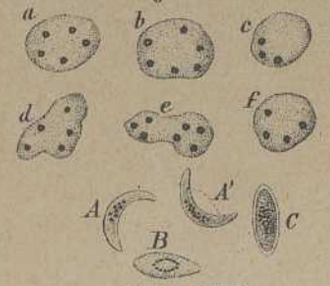


Fig. 138

Fig. 127

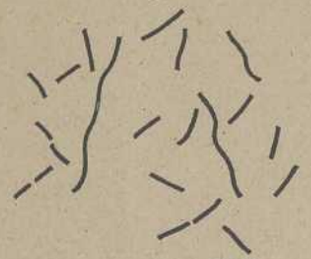


Fig. 128



Fig. 132

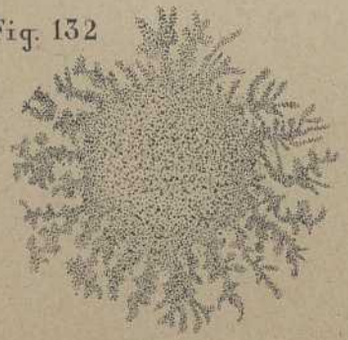


Fig. 133



Fig. 129



Fig. 130

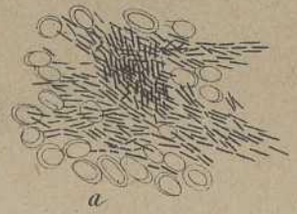


Fig. 131

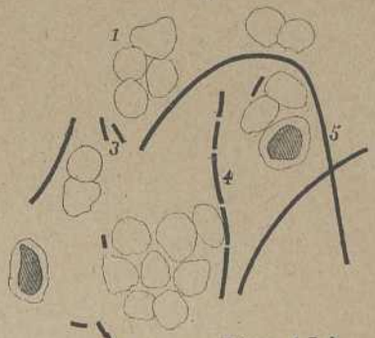


Fig. 139

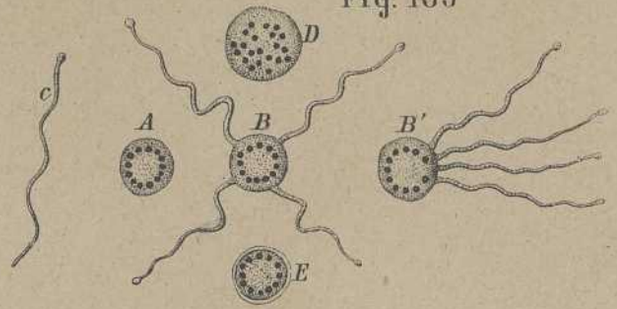


Fig. 134

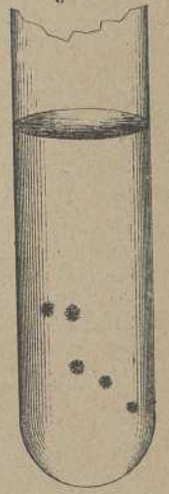


Fig. 135

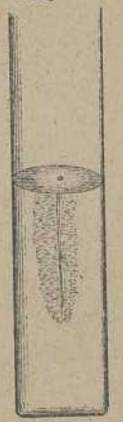


Fig. 140

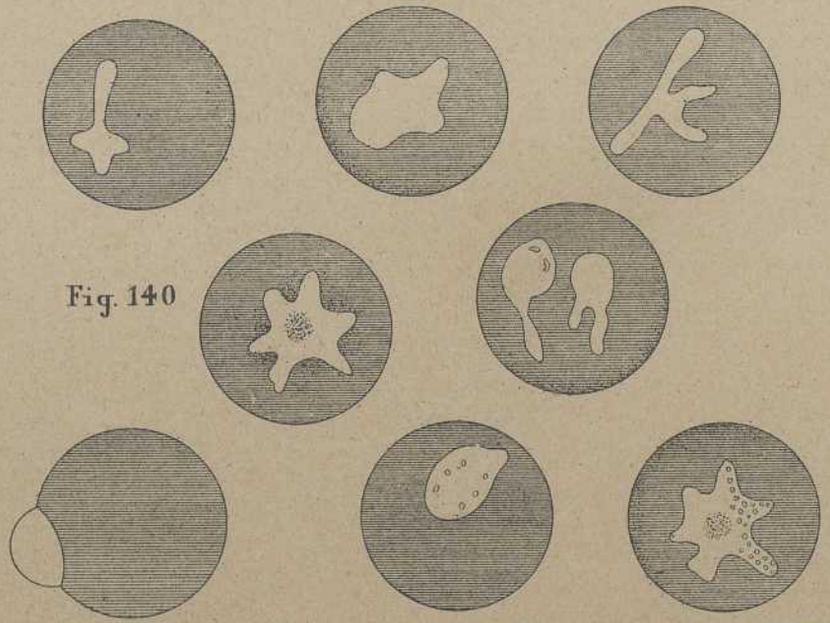


Fig. 136



LÁMINA 15

Tip. lit de F. Nacente, editor.

Fig. 141



Fig. 146



Fig. 147



Fig. 145

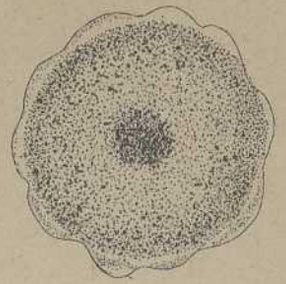


Fig. 148

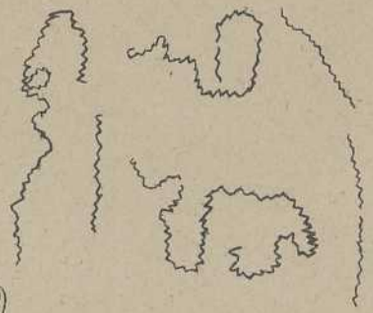


Fig. 142

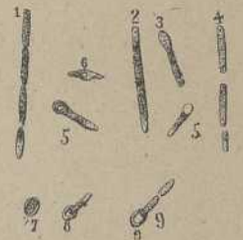


Fig. 149

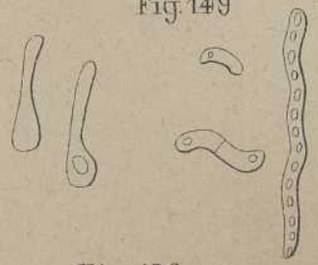


Fig. 143

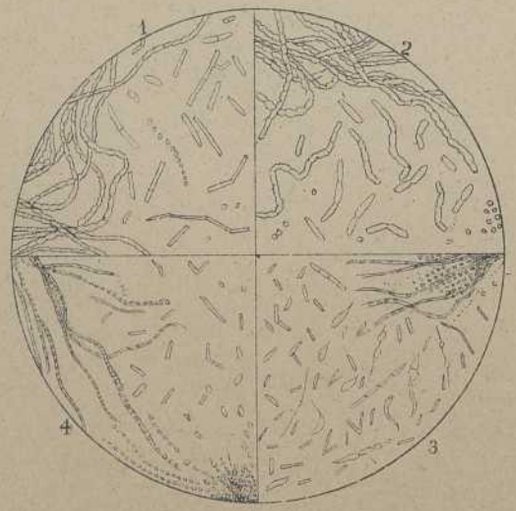


Fig. 150

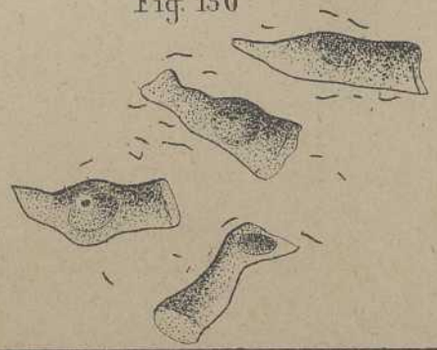
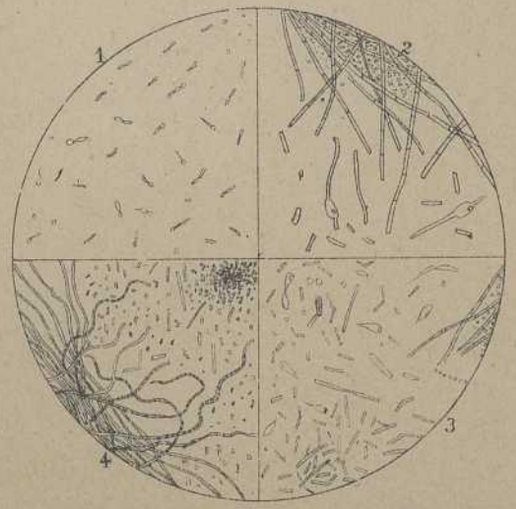


Fig. 144



Tip. lit. de F. Nacente, editor.

Fig. 151



Fig. 153

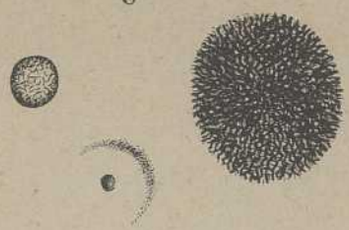


Fig. 152



Fig. 157

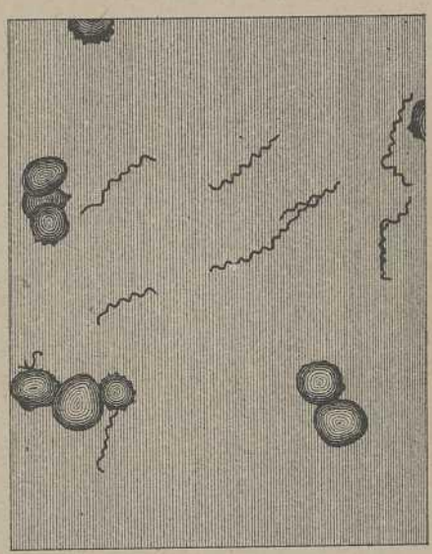


Fig. 155



Fig. 156



Fig. 154



Fig. 158

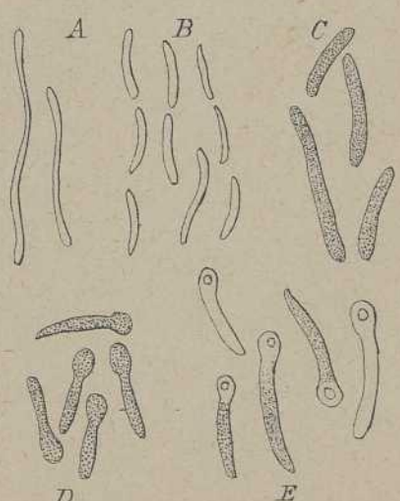


Fig. 160

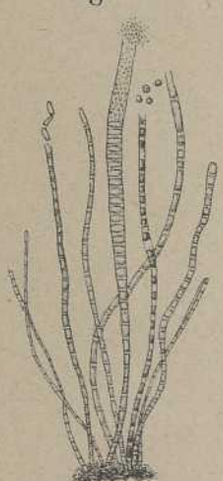
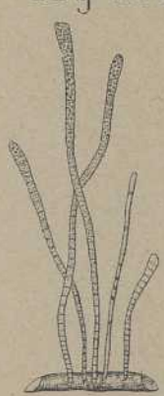
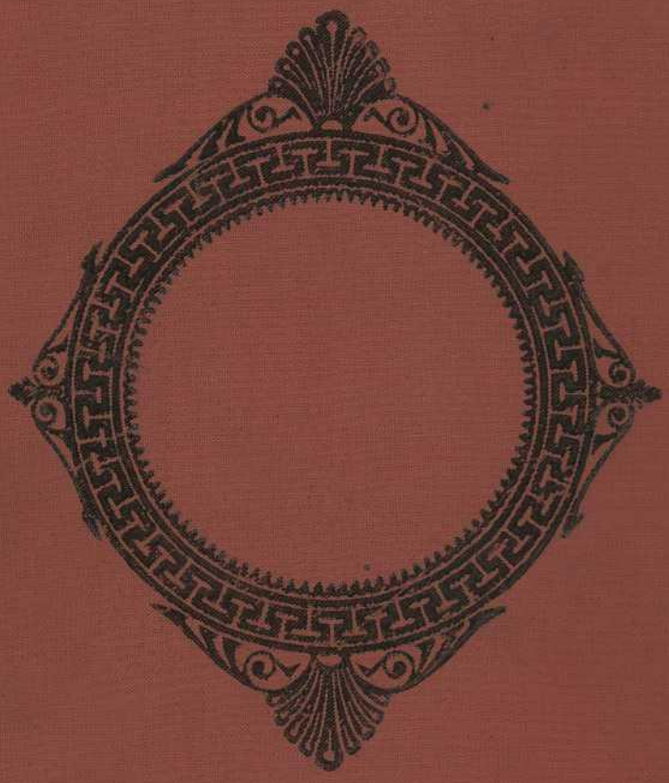


Fig. 159



Tip. lit. de F. Nacente, editor.



LA

MICROBIOLOGIA

16.453

A. DOMINGO
BARCELONA