

## Tesis de Posgrado

# Contribución al estudio del bacilo búlgaro y su adaptación al ácido fénico

Michel, Zacarías

1922

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Michel, Zacarías. (1922). Contribución al estudio del bacilo búlgaro y su adaptación al ácido fénico. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0147\\_Michel.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0147_Michel.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Michel, Zacarías. "Contribución al estudio del bacilo búlgaro y su adaptación al ácido fénico". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1922.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0147\\_Michel.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0147_Michel.pdf)

**UNIVERSIDAD NACIONAL**

de

**BUENOS - AIRES**

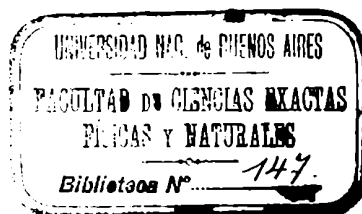
**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FISICAS Y NATURALES**

-----  
**CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL BACILO BULGARO  
Y SU ADAPTACION AL ACIDO FENICO**  
-----

**Tesis sostenida para optar al titulo del  
Doctor en Quimica**  
-----

por

**Zacarias Michel**



**BUENOS - AIRES**

**1922**

P a d r i n o d e t e s i s

C o n s e j e r o

Profesor Doctor Alfredo A. Sordelli

Resumen de trabajos sobre la adaptación de los microorganismos a los antisépticos.

La adaptación de los microorganismos a los antisépticos y en general a todo lo que es desfavorable a su existencia es una cuestión relativamente nueva, como es nuevo todo lo que se relaciona con la microbiología, ciencia de reciente formación. A pesar de que antes de Pasteur existían algunas observaciones aisladas sobre algunos microorganismos y especialmente sobre las levaduras, un microorganismo enormemente difundido, de inmensa aplicación práctica y de relativamente fácil observación, el verdadero progreso de la microbiología empieza desde los memorables trabajos de Pasteur, quien ha puesto las bases científicas de esa ciencia. Arancado por Pasteur el manto misterioso que ocultaba el mecanismo íntimo de las fermentaciones y el papel inmenso que desempeñan los microorganismos en todos los fenómenos vitales, llegó la era de las observaciones metódicas sobre los microorganismos con las consiguientes deducciones generales. Es natural que, por razones que ya hemos expuesto, el primer microorganismo que fué estudiado bajo la nueva faz científica fué la levadura y que las primeras observaciones detalladas sobre la adaptación de microorganismos a los antisépticos fueron hechos sobre las levaduras.-

Effront, el sabio microbiólogo belga, buscando las condiciones que permiten el trabajo de las levaduras de destilería é impiden el desarrollo de los otros microorganismos, ha hecho ensayos en el año 1894 con los fluoruros y con el ácido fluorhídrico y encontró, que la levadura puede soportar una dosis de fluoruros más alta que los otros microorganismos, que a cierta dosis esas sales actúan como excitante para la

actividad de la levadura y que se puede acostumbrar la levadura a trabajar y desarrollarse en presencia de una dosis de ácido fluorhídrico mucho más alta que la levadura nueva.-

Para obtener la levadura adaptada al ácido fluorhídrico Efferont usó el procedimiento siguiente.-

Se siembra la levadura en el mosto que tiene 200 mmgr. por litro de ácido fluorhídrico; cuando la cuarta parte de azúcar está transformada en alcohol, se agrega al cultivo 100 mmgr. más de ácido y se deja la fermentación llegar a la mitad. Entonces se siembra 100 cc. de este cultivo en 900 cc. del mosto nuevo con 400 mmgr. de ácido fluorhídrico; se hace del mismo modo hasta que se llega a la dosis de 3 gr. de ácido fluorhídrico por litro, obteniendo siempre el desarrollo normal de la levadura, siendo esta dosis mortal para la levadura nueva.-

Efferont ha hecho esos ensayos con 4 levaduras: *Sacharomices pastorianum*, *Sacharomices Cerevisiae*, levadura de Carlsberg y levadura de Burton.-

En la misma época, dos médicos franceses, De Backer y Bruhat, buscando la aplicación de la levadura en la terapéutica humana han realizado el estudio verdaderamente notable sobre la biología de la levadura. Uno de los puntos estudiados por ellos fue la adaptación de la levadura a los antisépticos y a las toxinas microbianas. Apercibidos de la facilidad con que las levaduras se adaptan a las modificaciones del medio nutritivo, esos investigadores ensayaron con éxito a obtener la adaptación a diferentes antisépticos de la levadura que usaron ellos para todos sus experimentos.-

Su técnica es algo diferente de la de Efferont. Por ejemplo para

obtener la adaptación al bicloruro de mercurio se ha procedido de este modo.-

Se siembra 2 1/2 litros de mosto, agregado de 0 gr.10 de bicloruro ( dosis minima que impide la fermentación de la levadura comercial, según las experiencias de Regnard ) con 50 gr. de levadura pura ,prensada, muy activa. La fermentación se hace con dificultad, y al cabo de 48 horas la levadura se deposita en el fondo del vaso, signa de la fermentación terminada. Se filtra el líquido por el filtro especial, inventado por estos autores, que deja pasar solamente células jóvenes. Se toma el peso de esas células y con ellos se siembra el mosto nuevo agregado de una cantidad de bicloruro, proporcional al peso de esas células. La fermentación se produce más activamente. Se repiten esas siembras hasta que la fermentación se produce normalmente. Entonces la levadura esta ya adaptada a esa dosis de bicloruro. Se dobla la dosis del antiséptico y se procede del mismo modo hasta llegar a la fermentación normal.-

Después de cinco meses de experimentación esos investigadores han obtenido la levadura que fermenta normalmente en el mosto agregado de 1 gr. por litro de bicloruro.-

Del mismo modo de Backer y Bruhat han obtenido las razas de levaduras que fermentan en los mostos iodados, iodurados, fenicados, timolados, salicilados etc.-

Obtenidos esos resultados con los antisépticos, De Backer y Bruhat, considerando logicamente las toxinas microbianas como antisépticos para la levadura, han hecho numerosos experimentos sobre

la adaptación de la levadura a las toxinas microbianas, hecho que tiene, fuera del interés puramente teórico, una aplicación práctica importante en la industria y en la terapéutica. Los primeros ensayos fueron hechos con el bacilo de Koch.-

El cultivo del bacilo de Koch, muy virulento en el caldo glicerinado de veinte días se mezcla íntimamente. Se agregan dosis variadas de este cultivo al mosto y se siembran los balones con 1 gr. de levadura.

Resumiendo los ensayos en un cuadro:

cantidad de mosto	cantidad de cultivo microbiano agregado	atraso en la fermentación
40 cc.	5 cc.	1/2 hora
40 cc.	5 cc.	1/2 "
40 cc.	10 cc.	8 " s
40 cc.	10 cc.	8 "
20 cc.	20 cc.	14 "
20 cc.	40 cc.	18 "

Por otra parte de Backer y Bruhat han realizado un ensayo de adaptación de la levadura a la tuberculina, sembrando siempre 40 cc. de mosto, agregado de 5 cc. de tuberculina con 0 gr.5 de levadura. He aquí el cuadro del ensayo:

La primera generación	sufre un atraso en la fermentación de cinco días.				
La segunda generación	sufre un atraso de dos días				
La tercera	"	"	"	"	" 32 horas
La cuarta	"	"	"	"	" 24 horas
La quinta	"	"	"	"	" 18 "
La sexta	"	"	"	"	" 9 "
La séptima	"	"	"	"	" 6 "
La octava	"	"	"	"	" 2 "

En la undécima y duodécima la fermentación ya es normal.-

Los mismos ensayos fueron repetidos agregando directamente al mosto los productos patológicos tuberculosos como esputos, exudados, obteniendo siempre el mismo resultado.-

Alentados por esos resultados de Backer y Bruhat han repitido los mismos ensayos con el bacilo de Löffler, bacilo de Kberth, estafilococo y otros bacterios patogenos, llegando a las conclusiones de que las toxinas microbianas actuan sobre las levaduras como los anti-sépticos y que las levaduras se adaptan a esas toxinas del mismo modo como a los anti-sépticos. Puesto el corriente de esos ensayos por los mismos autores, Jaquemin, el famoso enologo frances, ha aplicado inmediatamente las deducciones de esos ensayos a la industria de fermentación, que recien dejaba la práctica rutinaria para entrar en la senda de la técnica industrial, basada sobre los principios científicos, descubiertos por Pasteur. Una de las inovaciones, que introdujo Jaquemin en la industria de fermentación, era el uso de la levadura pura )<sup>x</sup> de la fermentación anterior a la siguiente. Pero hubo casos que la levadura pura no se desarrollaba en el mosto, no " tomaba pie " , como dicen los industriales, y en vez de buena fermentación se producía la infección del mosto por los microorganismos nocivos. Entonces Jaquemin considerando justamente, que la levadura no "tomaba pie" porque no era apta de luchar con los otros microorganismos por falta de adaptación a toxinas de estos, empezó a preparar las razas de levaduras aclimatadas a los microorganismos comunes que se encuentran en el mosto como bacilos lácticos, butírico, y los resultados que el obtuvo con estas levaduras aclimatadas fueron muy halagueños.-

Estos hechos han dado tambien la explicación científica a la

)<sup>x</sup>: selleccionada en vez de llevar la levadura



vieja práctica de las industrias de fermentación alemanas que tienen por costumbre de provocar la fermentación láctica en el mosto hasta llegar a un cierto grado de acidez, antes de agregar la levadura. Se hace eso evidentemente porque la fermentación láctica impide el desarrollo de los otros microorganismos en el mosto por la acidificación del medio, pero era inexplicable que la levadura, que no puede soportar normalmente más de 1/800 de fermento láctico, pudiese soportar la cantidad mucho mayor que se produce en la fermentación por el método alemán.

Por lo que hemos visto, el fenómeno se explica por la adaptación de la levadura a la acidez del mosto, como consecuencia de los innumerables pasajes que ha sufrido por los mostos ácidos. Y según Effront, el ácido láctico no solamente no produce el efecto nefasto sobre la levadura aclimatada a este ácido, pero al contrario este sirve como excitante de la actividad fermentativa de la levadura al igual de ácido fluorhídrico, como lo hemos visto anteriormente.-

Las primeras observaciones metódicas sobre la adaptación de los bacilos a los antisépticos, los encontramos en el trabajo de Kosiakoff, año 1887, del laboratorio de Duclaux. Los ensayos fueron hechos con *tirotrix tenuis*, *tirotrix scaber*, *bacillus subtilis* y *bacillus anthracis*. Como antisépticos se usó el borax, ácido bórico y bicloruro de mercurio. Los ensayos proseguieron hasta llegar a la dosis máxima que pudiese soportar el bacilo.

El resultado de este trabajo se resume en el cuadro siguiente:

	BORAX nuevo aclimat.	ACIDO BORICO nuevo aclimat.	BICLORURO nuevo aclimat.
<i>bacillus anthracis</i>	4      7	6      8	0,05    0,07

tirotrix scaber	11	15	8	10	0,06	0,08
bacilus subtilis	11	18	9	11	0,07	0,10
tirotrix tenuis	16	21	9	11	0,10	0,17

Las cifras indican la dosis máxima que puede soportar el bacilo nuevo y aclimatado. De ese cuadro se ve que existe para esos bacilos una adaptación relativa a los antisépticos.-

El otro gran sabio frances, Ch. Richet se ocupó de este cuestion en el año 1892 y, desde entonces hasta el momento actual, ha hecho numerosos ensayos sobre la adaptación del fermento láctico, aislado de la leche. Sus ensayos hechos primeramente con acetato de talio, fueron aplicados más tarde a una gran cantidad de sustancias.

Como medio de cultivo uso la leche diluida de su volumen de agua. La vitalidad del fermento se comprobaba por su actividad fermentativa, midiendo el acido láctico producido por la fermentación de la lactosa de la leche. Como la adaptación del microorganismo a una sustancia no se caracteriza solamente por la propiedad de poder soportar las dosis crecientes de esa sustancia, pero tambien por la propiedad de volverse sensible a la disminución de esa sustancia, Richet siembra el fermento no solamente en el medio con dosis crecientes del antiséptico, pero tambien con dosis decrecientes y en el medio puro sin adición del antiséptico.-

La acidez producida por el fermento nuevo en el medio puro se toma como 100 y se comparan con esa cifra las acideces producidas en otros tubos. Cada tubo contiene 10 cc. de leche. Por ejemplo con el seliniato potasio Richet ha procedido de este modo.

Se determina primeramente la dosis de esa sustancia que es

tóxica para el fermento; se ha visto, que la actividad del fermento que dió con 5 gr. de de seleniato por mil, 102 de acidez en tres dias, comparada con 100 del medio puro, bajo a 74 con 7 gr.5 de seleniato por mil. La cantidad de 7 gr.5 por mil es la dosis toxica.

Entonces el tubo anterior a esa dosis, que es el tubo con 5 gr. de selniato, sirve para sembrar los tubos de leche pura y los tubos de leche con 2 gr.5, 5 gr., 7 gr.5 de seleniato; se toma la acidez durante 3 días, el termino medio da:

tubos	acidez
1) sin antiséptico.....	96
2) con 2,5 de antiséptico.....	98
3) " 5 gr. " .....	132
4) " 7 gr.5 " .....	125

Ahora se toma para siembra el tubo con 7 gr.5 de seleniato y se siembra como antes en las dosis crecientes y decrecientes de seleniato.-

Se toma la media de acideces de tres dias:

tubos	acidez
1) sin antiséptico.....	89
2) con 5 gr. de antiséptico.....	111
3) " 7 gr.5 " .....	138
4) " 10 gr. " .....	153

Se siembra con el fermento del tubo con 10 gr.:

tubos	acidez
1) sin antiséptico.....	89
2) con 7,5 gr. de antiseptico.....	108

3) con 10 gr. de antiséptico.....	148
4) " 20 " " " .....	189

Se siembra con el fermento del tubo con 20 gr.:

tubos	acides
1) sin antiséptico.....	91
2) con 10 gr. de antiséptico.....	118
3) con 20 gr. " " .....	149
4) " 43 gr. " " .....	222 (!)

Se siembra con el fermento del tubo con 43 gr.:

1) sin antiséptico.....	78
2) con 20 gr. de antiséptico.....	115
3) " 43 " " " .....	124
4) " 65 " " " .....	133

Parece que la dosis de 43 gr. de seleniato de potásico por mil ya debilita al fermento.-

Como se ve de esos cuadros el fermento se desarrolla todavía activamente en presencia de 65 gr. de seleniato por mil y, cosa curiosa, en presencia de 43 gr. de esa sustancia por mil tiene actividad más que doble ( 222) del fermento nuevo en leche pura. Eso demuestra la formación de una raza nueva del fermento láctico que se adaptó tanto al seleniato que lo exige para su normal desarrollo.-

Del mismo modo, variando solamente las dosis, según su toxicidad, ha procedido Richet con varias sustancias como, fosfato potásico, nitrato potásico, sulfato de cobre, cloruro de sodio, bromuro potásico, citrato de talio, arseniato potásico, obteniendo los resultados parecidos. Con arseniato potásico llegó Richet a la dosis de 48 gr. por mil, notando que el fermento no se desarrollaba más en

la leche sin esa sustancia. Parece de algunas de esas experiencias que la adaptación no se hace progresivamente, pero que el fermento empieza la adaptación muy lentamente y en cierto momento con una dosis del antiséptico demuestra una adaptación brusca a esa dosis y después de eso, la adaptación va progresando rápidamente.-

Se ha podido notar también que todas esas sustancias se han mostrado primeramente excitantes de la actividad del fermento, como ya hemos visto eso con ácido láctico y fluoruro para las levaduras.

A más de estas observaciones sobre la adaptación de los microorganismos a los antisépticos podemos indicar los trabajos de Ehrlich y sus alumnos sobre cierta adaptación de los espiroquetas y tripanosomas a las sales arsenicales; ensayos de Ch. Cardot y H. Cardot sobre la adaptación de los estreptococos y los de Martindall sobre la adaptación del bacilo caucásico a algunos antisépticos.-

Como vemos de este breve resumen, hay todavía pocos trabajos sobre la adaptación de los microorganismos a los antisépticos y en general al medio ambiente y sin embargo esa cuestión tiene gran interés para la biología general. En efecto la adaptación de los microorganismos a los antisépticos es solo una pequeña parte de la adaptación general de todos los seres vivos al medio ambiente, adaptación cuyo mecanismo se estudia y se discute desde que nació la teoría de Darwin sobre la selección de las especies.-

Nosotros podemos estudiar la adaptación al medio de las especies más desarrolladas únicamente a través de su historia, notando las variaciones fisiológicas de esta especie en la escala de varias

generaciones. Nosotros no podemos apereibirnos de variación fisiológica bajo la influencia del ambiente en una sola generación por ser esa variación demasiado pequeña para poder observarla con nuestros medios de investigación.-

No pasa lo mismo con los microorganismos. Sus generaciones se suceden tan rápidamente que en el termino de algunos dias se puede estudiar muchas de ellos y por más mínima que sea la variación fisiológica en una gerneración, a traves de 10 - 20 generaciones esa variación ya es suscetible de observación.-

Por eso y admitiendo que las leyes biológicas son iguales para todos los seres vivos desde los microscópicos hasta los más grandes, el estudio de la adaptación de los microorganismos al medio es de grán interes para la biologia.-

El proceso de la adaptación a las variaciones del ambiente puede considerarse de dos modos distintos.-

En el primer caso se admite, que los individuos de una especie sufren una modificación fisiológica que les permite vivir en las nuevas condiciones del medio, modificación que sera ampliada y robustecida por la transmision en las nuevas generaciones. Ese modo de ver conduce al concepto de la adaptación constructiva ó selección por el mejoramiento de la especie, concepto de Darwin y que sostienen la mayor parte de los biologos.-

En el secundo caso se admite que la mayoría de los individuos perecen a consecuencia de la variación del medio, sobreviven unicamente los individuos que eran accidentalmente más resistentes y esos individuos daran una generación nueva que tendrá una parte de los individuos más resistente y otra parte de los individuos

comunes, los cuales pereceran tambien como anteriores.-

Según este concepto no existe la adaptación propiamente dicha, ni tampoco el mejoramiento de la especie, lo que hay es una selección destructiva que selecciona los individuos que eran accidentalmente más resistentes a esta variación. Ese concepto defiende Boulard en su interesante libro sobre levaduras.-

En los dos casos el resultado de selección es el mismo, pero el proceso es del todo diferente.-

Los experimentos sobre la adaptación de los microorganismos a los antisépticos, que hemos resumido, nos permite aclarar algo este cuestion.-

En efecto si en el caldo con antiséptico sobreviven únicamente los individuos más resistente accidentalmente, haciendo varios ensayos idénticos con la misma dosis del antiséptico, el resultado debe variar en cada ensayo según la cantidad accidental de los individuos en el caldo. Pero los ensayos de De-Backer y de Richet demuestran que los resultados son idénticos casi matematicamente para la misma dosis del antiséptico. Tampoco se podria determinar la dosis toxica para el microorganismo dado, como lo ha hecho Richet para el fermento láctico, porque la dosis tóxica variaría en cada ensayo con la cantidad accidental de los individuos más resistentes a esta dosis y como hemos visto la dosis toxica es bien fija. Parece más bien que la fijeza de la dosis toxica indica la amplitud de la adaptación al antiséptico que puede sufrir el fermento láctico a través de unas pocas generaciones.-

No hay duda que el estudio más amplio de la adaptación de

los microorganismos al medio contribuirá eficazmente a aclarar el proceso general de la adaptación de todos los seres vivos al medio ambiente.-



## HISTORIA, BIOLOGIA y APLICACION DEL BACILO BULGARO .

---

### H i s t o r i a:

El bacilo Bulgaro fué aislado por primera vez por Massol y en mismo tiempo por Grigoroff de la leche acida bulgara, Yugurt en el año 1905.-

Era justamente la epoca cuando Metschnikoff emitia su teoria sobre la vejez prematura como consecuencia de la intoxicación cronica producida por fermentación putrida en el intestino. Y como el bacilo Bulgaro pareció un antagonista formidable de los agentes de las fermentaciones putridas, fué objeto de numerosos estudios, entre ellos de Cohendy, Combes, Bertrand y Weissweller, Duchacek, Laurcen y Kühn, Effront, Mozé, Rosental etc.-

Algunos autores han confundido el bacilo Bulgaro con el bacilo Caucásico que se encuentra en granos de Kefir, pero los ulteriores investigaciones han delimitado netamente esos dos bacilos.

### B i o l o g í a:

El bacilo Bulgaro es un bastoncito aislado de 6-7  $\mu$  de largo por 0,5  $\mu$  de ancho, con extremidades algo redondeadas, inmovil.-

Pero sus caracteres morfologicos no son constantes. Se presenta muchas veces en forma de cadenas, especialmente en los medios de cultivo favorables, lo mismo que parece más grueso y de contrario en cultivo viejo se achica tanto que parece un diplococo, como yo he podido notar en los comprimidos de bacilo Bulgaro viejos de un año que yo he preparado. El mismo fenómeno ha observado Rosental durante sus sus investigaciones, de las cuales nos ocuparemos más tarde, llamando este fenómeno, la mutación del bacilo Bulgaro en diplo-estreptococo y atribuyendolo a las condiciones desfavorables del medio.- (1)

---

El bacilo Bulgaro se tiñe bien por los colorantes de anilina y toma el gram, pero cuando se encuentra en medio desfavorable ó en el cultivo viejo se colorea difícilmente y hasta pierde la propiedad de tomar el gram .-

El bacilo Bulgaro es un aerobio facultativo, se desarrolla con más abundancia en los cultivos con poco acceso de aire y se conserva mucho más tiempo al abrigo del aire.-

No produce esporos.-

La temperatura optima para el desarrollo del bacilo es 40°-42°, pero se adapta facilmente a la temperatura de 37°, como yo he podido observar durante mis ensayos. El bacilo se desarrolla mal abajo de 37° y arriba de 45°.

El bacilo exige los medios de cultivo especiales para su desarrollo; en medios comunes no se desarrolla. Effront en cierto momento ha sostenido lo contrario, basándose sobre el hecho que el consiguió cultivar en caldo peptonado un bacilo que el aislo de las preparaciones farmacéuticas y el cual el indentifico como bacilo Bulgaro. Pero Bertrand y Duchacek han demostrado que el bacilo de Effront no es idéntico al bacilo Bulgaro. Yo nunca he podido cultivar el bacilo Bulgaro, con el cual yo he trabajado, en los medios comunes.-

Bertrand clasifica los medios de cultivo para el bacilo Bulgaro de este modo:

excelentes:

1) leche adicionada con carbonato calcico

---

1) Este fenómeno permite considerar el diplo-estreptococo lebines que se encuentra en la leche acida egipcica, leben, como una variación del bacilo Bulgaro.-

- 2) leche sola
- 3) infusion de raicillas de cebada germinada con peptona, carbonato calcico y lactosa u otro azucar fermentescible.
- 4) mosto de malta con peptona, lactosa y carbonato calcico

bastante buenos:

- 1) agua de levadura con peptona, lactosa y carbonato calcico.
- 2) suero de leche con carbonato calcico.

malos:

todos los medios sin carbonato calcico.-

Sin embargo, Cohendy recomienda como medio de eleccion para bacilo Bulgaro el suero de leche sin carbonato calcico, pero con peptona, gelatina y azucar candi.-

Yo personalmente he usado este último medio de cultivo para bacilo Bulgaro con excelentes resultados.

En este medio el bacilo Bulgaro da el abundante desarrollo desde ya 16 horas, enturbiando uniformemente el líquido con pequeño depósito en el fondo; no produce gases, ni mal olor, ni forma películas en la superficie del líquido.-

Como medio de cultivo solido da buen resultado la gelosa a base de suero de leche indicado más arriba. Aspecto de las colonias en cajas de Petri: blancas, lenticulares en el espesor de la gelosa; en forma de flocones "givrés" en la superficie, según Cohendy y conforme con mis propias observaciones.-

El bacilo Bulgaro no se conserva en el cultivo en leche pura más de 5-6 dia a 37°, a temperatura más baja de -10 -15 dias; en el tubo cerrado hermeticamente se conserva dos - tres meses.-

En el suero de leche de Cohendy la conservación es algo mejor. (1)

El Bacilo Bulgaro es el fermento lactico más activo conocido hasta ahora. La cantidad de acido láctico producido en la leche por la fermentación de la lactosa llega a 30 gr. por mil.-

La leche se coagula a 37° en 14-16 horas.

El aspecto del coagulo es característico, blanco porcelánico, firme, sin el líquido que sobrenada, conserva indefinidamente casi el mismo aspecto al abrigo de las infecciones accidentales.-

En el medio de Cohendy la acidez llega a 12-13° por mil en 24 horas y puede llegar hasta 15 por mil en los días siguientes.-

Se producen también en la fermentación vestigios de acidos acético, succínico, formico y oxálico.-

(1) La conservación del bacilo Bulgaro es un punto importante para su aplicación terapéutica, de la cual nos ocuparemos más adelante. Si no se puede crear las condiciones más favorables para su longevidad su aplicación terapéutica se vuelve muy difícil, porque sería necesario entonces de entregar al enfermo únicamente los cultivos recién hechos del bacilo, lo que es difícilmente realizable en la industria. Pero por suerte, en forma de comprimidos y observando rigurosamente las prescripciones de la técnica bacteriológica durante su preparación, el bacilo Bulgaro se conserva vivo más de un año. En los comprimidos que yo he preparado, he podido comprobar la existencia del bacilo vivo después de un año. Naturalmente la actividad del bacilo era muy débil, pero con algunos pasajes en leche, el bacilo recuperaba casi por completo su actividad.

A más de la lactosa el bacilo Bulgaro descompone también la glucosa, galactosa y manosa.-

No ataca la sacarosa, si este azúcar es el único que se encuentra en medio de cultivo, pero lo consume en presencia en presencia de lactosa, hecho comprobado también respecto a la maltosa por Duchasek.

Según Bertrand y Weisweller, Duchasek, Cohendy y otros, el bacilo Bulgaro tiene el poder proteolítico insignificante.-

Effront, basándose sobre sus propias investigaciones, de las cuales ya hemos hablado, y sobre los trabajos de Barthel y Bienstok, ha sostenido que el bacilo Bulgaro puede desarrollar una acción proteolítica pronunciada sobre la caseína en el momento que toda la lactosa está consumida y en presencia de carbonato cálcico que neutraliza el ácido láctico producido. Este hecho, al resultar cierto, demostraría una modificación biológica muy profunda del bacilo Bulgaro y sería una observación importantísima desde el punto de vista de la adaptación de los microorganismos al medio. Pero, como ya hemos visto, Duchacek ha demostrado, que el bacilo, aislado por Effront, no es el Bulgaro, y más tarde Effront mismo ha reconocido, que en la mayoría de las preparaciones medicinales estudiadas por él y otros autores, se trataba de un bacilo solamente parecido al Bulgaro, al cual denominó, bacilo pseudo-láctico, y el cual tiene un poder proteolítico notable.-

Yo personalmente nunca he observado el hecho anunciado por Effront en el cultivo puro de bacilo Bulgaro.-

**A p l i c a c i ó n . T e r a p e ú t i c a :**

Como hemos dicho el estudio de las leches ácidas orientales y el descubrimiento en el Yagurt del bacilo Bulgaro ha coincidido

con la época en la cual Metschnikoff defendía su teoría sobre la vejez prematura como consecuencia de la fermentación intestinal. El intestino humano particularmente el grueso contiene en estado normal una grán cantidad de microorganismos entre los cuales hay varios capaces de producir la fermentación putrida. Entre estos bacilos se destacan por su poder proteolítico marcado el bacilo Sporogenes, bacilo Perfringens, bacilo Patrificous, bacilo Proteus, este último causante del colera infantil según los recientes trabajos de Metschnikoff y sus discipulos. Esos bacilos, cuando no provocan en ciertos momentos la intoxicación agudo, como en el caso del colera infantil, producen siempre la intoxicación crónica del organismo por las sustancias tóxicas que resultan de su acción proteolítica sobre las materias albuminoidas y esa intoxicación disminuye la vitalidad del organismo, produce su desgaste prematuro y la vejez. Como sustancias tóxicas que se producen en el intestino, indicaremos más activas, fenol e indol.-

Es verdad que hay tambien algunos microorganismos intestinales que pueden ayudar a la digestión de hidratos de carbono, pero su acción benéfica es muy poca en comparación con el daño que producen los bacilos proteolíticos.-

Entonces para combatir la intoxicación lenta del organismo, es necesario suprimir la acción de fermentos proteolíticos en el intestino. Esa acción no depende solamente de la clase <sup>de</sup> materias proteicas ingeridas, pero tambien depende mucho de las condiciones quimicas del ambiente intestinal y de la concurrencia vital entre los microorganismos intestinales. Si no se puede suprimir

las materias proteicas putrescibles de la alimentación hay que buscar de modificar el ambiente intestinal en el sentido desfavorable para el desarrollo de fermentos proteolíticos.

Las leches cuajadas orientales, como Yugurt, leben, Kefir y otros, usados desde los tiempos remotos en estos países, han llamado la atención de Metschnikoff por responder a este desideratum y más por el hecho, notado por varios autores, que, en los países consumidores de estas leches acidas, la longevidad de sus habitantes es mayor <sup>que</sup> en los otros países.-

En efecto, la leche acida es facilmente absorbida por su gusto agradable, la caseina es más digerible no se pudre en el intestino por estar impregnada de acido láctico y los fermentos lácticos de la leche acida entran en concurrencia vital con los bacilos intestinales, protegidos con el acido láctico.-

El más activo de esas leches acidas resulta el Yugurt. Combes considera el Yugurt como antipútrido de grán valor por la grán cantidad de acido láctico que contiene, pero Metschnikoff atribuye más bien su acción inhibitoria sobre los agentes de putrefacción a los fermentos lacticos y especialmente al bacilo Bulgaro.-

Para dilucidar este punto y en general para probar la acción antagonista del báculo sobre los bacilos de putrefacción se han hecho numerosos ensayos con las más variadas especies microbianas.

Grithari estudió la concurrencia vital entre el bacilo Bulgaro y bacilo Butirico, encontrando que en el medio alcalino ó neutro es el bacilo Butirico quien triunfa, sucediendo lo contrario en el medio

acido adonde el bacilo Bulgaro no deja desarrollarse al Butirico.-

Berthelot, haciendo experiencias con el meningococo, ha visto que el bacilo Bulgaro mata el cultivo de meningococo en 36 horas y que el meningococo sembrado en el cultivo de bacilo Bulgaro muere en 3 horas.-

Fué Rosental, quien ha hecho más investigaciones sobre esta cuestion.-

Este autor encontró que el bacilo Bulgaro " in vitro " produce rapidamente la muerte de microbios del grupo Coli-Eberth, estafilococo; impide el desarrollo del vibrion colérico (1); no consigue impedir el desarrollo del bacilo Perfringens, pero anula su poder proteolítico.

Naturalmente esos experimentos fueron hechos en medios de cultivo igualmente favorables al bacilo Bulgaro y al microorganismo ensayado. Estudiando el mecanismo de esta acción destructora del bacilo Bulgaro sobre estos microorganismos. Rosental llega a la conclusión que el principal agente que actua en este fenómeno es el acido láctico. Por eso la leche coajada acida es incontaminable. Neutralizando el acido láctico a medida de su producción los microbios pueden desarrollarse en presencia del bacilo Bulgaro.-

De estos experimentos resulta que el bacilo Bulgaro es un fuerte antagonista " in vitro " de los otros microorganismos por la grán

---

(1) Por eso Rosental aconseja el consumo de la leche acida como un buen médico preventivo durante la epidemia de colera asiática.



cantidad de ácido láctico que produce.-

Hay algunos experimentos que prueban esa acción también " in vitro ".

Belonowsky ha estudiado la modificación de la flora microbiana de las heces de las lauchas bajo la influencia de la ingestión del bacilo Bulgaro y ha notado después de 10 - 15 días la desaparición completa de numerosos bacilos que pululaban antes en el intestino de las lauchas y la supervivencia solamente de algunas especies de cocos al lado de la gran cantidad de bacilo Bulgaro.-

Cohendy ha observado las mismas modificaciones en la flora microbiana intestinal del hombre bajo la influencia del tratamiento con el bacilo Bulgaro y dosando los compuestos sulfocombinados en la orina, los cuales están en relación directa con la descomposición proteolítica de las materias azoadas en el intestino, ha notado la disminución en la cantidad de estos durante el tratamiento, lo que demuestra la disminución de la descomposición putrida en el intestino.

El hecho, notado por todos los experimentadores que han usado los fermentos lácticos, de la desodorización de las heces, comprueba también indirectamente la disminución de las fermentaciones intestinales.-

Estos trabajos han provocado mucho interés para el tratamiento de las infecciones intestinales por el bacilo Bulgaro u otros fermentos lácticos. -

Tissier, Brocoff lo han aplicado con éxito en la cólera infantil, Cohendy trató con buen resultado algunos casos de enteritis aguda. Combes lo ha aplicado en todos los casos de la infección intestinal

de los niños y actualmente hay pocos médicos que no lo usan corriente en las infecciones intestinales de los niños y adultos.

También el tratamiento por los fermentos lácticos fué ensayado en otros procesos infecciosos. Rosental y Berthalot lo han aplicado en las infecciones bucales, Jeanium y Cirille en las infecciones genitales de mujeres y algunos médicos en la tuberculosis de la garganta.-(1)

---

(1) La aplicación terapéutica del bacilo Bulgaro se ha resentido mucho ultimamente por la mala preparación de las especialidades medicinales de los fermentos lácticos que en forma de comprimidos se han difundido enormemente. Esta difusión se explica porque la administración de los fermentos lácticos en forma de comprimidos permite la mayor conservación del fermento y la industrialización de esos productos, mientras que en forma de caldo hay que prepararlo extemporaneamente para cada aplicación. La administración en forma de caldo de fermentos lácticos ó en leche cuagada tiene también el inconveniente de introducir en el organismo una cantidad regular de ácido láctico ya formado, al cual se va agregar más tarde el ácido producido por los fermentos en el intestino, lo que puede tener sus inconvenientes cuando el fermento está administrado durante mucho tiempo, lo que pasa en las afecciones crónicas. Usando los comprimidos se forma solamente el ácido láctico naciente a medida del desarrollo de fermentos lácticos, que es suficiente en mayoría de los casos para permitir al fermento láctico llevar mejor parte en su lucha con microorganismos intestinales.-

### Aplicación Industrial:

La aplicación industrial del bacilo Bulgaro tiene lugar en todos los casos cuando se precisa un fermento láctico activo. En la preparación de ácido láctico por el método de fermentación

---

Pero la mayoría de esas preparaciones que se venden al público en vez de tener el bacilo Bulgaro, tienen el bacilo pseudo-láctico, bacilo láctico, bacilo Bifido y otros que son fermentos lácticos débiles. Los comprimidos preparados con estos bacilos, recién hechos, tienen acción desinfectante en el intestino, pero su actividad disminuye rápidamente con el tiempo y hay muchas de esas preparaciones que en el momento de ser entregados al público ya no tienen más que los bacilos muertos, y naturalmente que estos comprimidos no producen ningún efecto terapéutico. Pero este hecho no implica que hay que desechar todos los comprimidos de fermento láctico. Hay varias de estas preparaciones que yo tuve ocasión de examinar repetidas veces y he encontrado siempre el fermento láctico vivo y bastante activo.-

Lo que hay que hacer, es establecer el control científico oficial de esas preparaciones, no admitiendo la venta de las preparaciones que no tienen fermento activo y que no llevan la fecha de su preparación.-

de la leche, el bacilo Bulgaro da mejor resultado que cualquier otro fermento láctico, por ser el mejor productor de ácido láctico que se conoce.-

En las queserías los fermentos lácticos tienen un rol importantísimo en la maduración de los quesos; el bacilo Bulgaro agregado al cuajo parece dar resultados halagadores en la obtención de buen gusto en los quesos.-

Lo mismo en la fabricación de manteca, el bacilo Bulgaro influye en la obtención de buen aroma de la manteca.-

En la industria de destilación de granos por el método alemán el bacilo Bulgaro sirve para acidificar el mosto con más eficacia que los fermentos lácticos usados hasta ahora.-

RESISTENCIA DEL BACILO BULGARO A LOS  
ANTISEPTICOS

Como el bacilo Bulgaro no es un bacilo patogeno, pero al contrario es un bacilo útil para el organismo humano, es más importante saber las dosis de los antisépticos en presencia de las cuales el bacilo puede desarrollarse, que saber las dosis de los antisépticos que lo matan en pleno desarrollo. Por eso yo he estudiado nada más que el poder antiséptico de algunas sustancias dejando de lado su poder bactericida para el bacilo Bulgaro.

He hecho ensayos con el bicloruro de mercurio, formol, fenol, agua oxigenada, resorcina, salicilato sodico, arseniato sódico.-

El medio de cultivo usado era la leche y el suero de leche de Cohendy.-

Los tubos con 10 cc. de medio de cultivo fueron adicionados con las dosis de los antisépticos, y sembrados con 0,5 cc. de cultivo en leche de 24 h. del bacilo Bulgaro.-

Los positivos indican el desarrollo del bacilo, los negativos - ausencia del del desarrollo:

AGUA OXIGENADA:

dosis	resultados:	
	leche	suero
1/20000	+ coag. tardia	+
1/10000	-	-
1/5000	-	-
1/1000	-	-

FORMOL:

1/20000	+ coag. 24h.	+
---------	--------------	---

1/10000	+ coag. 48h.	-
1/5000	-	-
1/1000	-	-

**BICLORURO DE MERCURIO:**

dosis	resultados	
	leche	suero
1/20000	+ coag. 24h.	+
1/10000	+ "	-
1/5000	+ "	-
1/1000	+ coag. 3 dias	-
1/800	-	-

**FENOL:**

1/10000	+ coag. 24h.	+
1/5000	+ "	+
1/1000	+ "	+
5/1000	+ coag. 3 dias	-
10/1000	-	-
20/1000	-	-

**RESORCINA:**

1/10000	+ coag. 24h.	+
1/5000	+ coag. 24h.	+
1/1000	+ coag. 24h.	+
5/1000	+ coag. 3 dias	-
10/1000	-	-
20/1000	-	-

**SALICILATO SODICO:**

1/10000	+ coag. 24h.	+
1/5000	+ coag. 24h.	+

dosis	resultados	
	leche	suero
1/1000	+ coag. 24h.	+
5/1000	+ coag. 2 dias	-
10/1000	-	-
20/1000	-	-
ARSENIATO DE SODA:		
1/10000	+ coag. 24h.	+
1/5000	+ coag. 24h.	+
1/1000	+ coag. 24h.	+
5/1000	-	-
10/1000	-	-
20/1000	-	-

De esos resultados se puede ver que la sustancia más activa es el agua oxigenada y que el bacilo resiste más en el cultivo en leche que en el suero, probablemente porque una parte del antiséptico se fija sobre la caseína de la leche; este hecho es más marcado con el bicloruro de mercurio.-

Por otra parte de esos resultados se ve, que el bacilo Bulgaro es uno de los bacilos más resistentes a la acción de los antisépticos.

## ADAPTACION DEL BACILO BULGARO

### AL ACIDO FENICO

Durante mis ensayos de preparaci3n de comprimidos de bacilo Bulgaro, concebí la idea de asociar el bacilo con un antiséptico para aumentar su acci3n antagonista sobre los otros microorganismos. Entonces, yo no conocí los trabajos de Richet sobre la adaptaci3n del fermento láctico, pero del libro del Dr. De-Backer sobre las levaduras supuse que sería posible adaptar el bacilo Bulgaro a los antisépticos.-

He tomado el fenol para ensayo, porque no es un antiséptico muy fuerte en cual caso precisaría un tiempo muy largo para conseguir la adaptaci3n del bacilo, en segundo lugar el fenol en pequeñas dosis se puede emplear para el uso interno.

Para comparar el desarrollo del bacilo dosaba la acidez en acido láctico producido. El dosaje hecho con soluci3n N/10 de hidrato sodico con fenolftaléina como indicador.-

Como medio de cultivo usé la leche pura descremada y el suero de leche Cohendy. A cada tubo ó frasco agregaba el fenol ( D-1,065) , por medio de una pipeta dividida en decimos y centesimos antes de sembrarlo con el bacilo. La siembra se hacia agregando 0,5 cc. de cultivo de bacilo Bulgaro.

#### Ensayos de adaptaci3n:

##### Experimento I.:

20 cc. de leche con 0,05 cc. de fenol, se siembra con el cultivo de bacilo Bulgaro de 24 horas; acidez 24h. - 20 o/oo, 48h.- 24 o/oo (1)  
Con este tubo después de 24 h. se siembra el tubo No.2 con 0,1 cc. de fenol;

acidez 24 h. - 8 o/oo, 48 h. - 12 o/oo.

(1) Acidez normal 24 h.- 21 o/oo, 48 h. - 25 o/oo.



Con este tubo se siembra después de 24 h. el tubo No.3 con 0,15 cc. de fenol;

acidez 24 h. - 7 o/oo, 48 h. - 10 o/oo

Con este tubo de 24 h. se siembra el tubo No.4 con 0,2 cc. de fenol:  
No hay desarrollo.

#### EXPERIMENTO II:

20 cc. de leche con 0,05 cc. de fenol se siembra con el cultivo de bacilo de 24 h.:

acidez 24 h. - 18 o/oo, 48 h. - 23 o/oo.

Con este tubo se siembra el tubo No.2 con 0,1 cc. de fenol:

acidez 24 h - 18 o/oo, 48 h. - 20 o/oo

Con el tubo No.2 se siembra el tubo No.3 con 0,15 cc. de fenol:

acidez 24 h - 12 o/oo, 48 h. - 18 o/oo.

Con el tubo No.3 se siembra el tubo No.4 con 0,2 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 11 o/oo, 48 h. - 16 o/oo

(1) Con el tubo No.3 se siembra el tubo No.5 con 0,15 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 13 o/oo; 48 h. - 18 o/oo.

Con el tubo No.5 se siembra el tubo No.6 con 0,2 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 9% , 48 h. - 14 o/oo

Con el tubo No. 4 & No.6 se siembra dos tubos con 0,2 cc. de fenol:

No hay desarrollo.

(2) **EXPERIMENTO III.:**

20 cc. de leche con 0,05 de fenol se siembra con el cultivo de bacilo de 24 h.:

acidez 24 h. - 19 o/oo, 48 h. - 24 o/oo.

Con este tubo se siembra el tubo No.2 con 0,1 de fenol:

acidez 24 h. - 17 o/oo, 21 o/oo.

(1): Este pasaje se hace para ver si el bacilo soporta mejor la dosis superior

(2): Ese experimento es la repetición del 2 sdo. y se hace para confirmar el resultado negativo de los dos primeros.

Con el tubo No. 2 se siembra el tubo No.3 con 0,15 cc. de fenol;  
acidez 24 h. - 10 o/oo, 48 h. - 15 o/oo.

Con el tubo No. 3 se siembra el tubo No.4 con 0,15 cc. de fenol;  
acidez 24 h. - 12 o/oo, 48 h. - 17 o/oo.

Con el tubo No.4 se siembra el tubo No.5 con 0,2 cc. de fenol:  
acidez 24 h. - 9 o/oo, 48 h. - 14 o/oo.

Con el tubo No.5 se siembra el tubo No.6 con 0,2 cc. de fenol:  
No hay desarrollo.

Pensé, que, dejando el bacilo más tiempo en contacto con fenol,  
la adaptación será mayor, dejó el tubo No.3 5 días a la temperatura  
de laboratorio.

#### EXPERIMENTO IV:

Con el tubo No.3 del experimento anterior de 5 días se siembra el tubo  
No.1 con 0,15 cc. de fenol,

acidez 24 h. - 17 o/oo, 48 h. - 20 o/oo.

Con el mismo tubo se siembra el tubo No.2 con 0,2 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 11 o/oo, 48 h. - 15 o/oo.

Con el tubo No.1 se siembra el tubo No.3 con 0,2 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 15 o/oo, 48 h. - 18 o/oo.

Parecía que la adaptación ha progresado, pero: con los tubos  
No.2 & No.3 se siembra dos tubos con 0,2 cc. de fenol:

No hay desarrollo.

He visto que en la leche no se puede llegar más allá de 0,2 cc.  
de fenol por 20 cc. de leche y decidí ensayar pasajes mixtos en leche  
y suero de leche.-

#### EXPERIMENTO V.

Con el tubo No.3 del experimento III de 9 días se siembra 50 cc.  
de suero con 0,05 cc. de fenol;

acidez 24 h. - 9 o/oo , (1),

después de 24h. se agrega 0,1 cc. de fenol;

acidez 48 h. - 13 o/oo.

Con este suero de 48 h. se siembra un tubo de leche de 20 cc. con 0,2 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 16 o/oo; 48 h. - 20 o/oo:

Con este tubo se siembra el tubo No.2 con 0,25 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 17 o/oo .

Con el tubo No. 2 se siembra el tubo No.3 con 0,3 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 10 o/oo , 48 h. - 12 o/oo.

#### Experimento VI.:

50 cc. de suero con 0,15 cc. de fenol se siembra con el suero de 48 h. del experimento anterior:

acidez 24 h. - 3.6 o/oo ; 48 h. - 4.2 o/oo.

#### EXPERIMENTO VII.:

50 cc. de suero con 0,1 cc. de fenol se siembra con el tubo No.1 de 48 h. del experimento V:

acidez 24 h. - 9 o/oo.

Con este suero se siembra el tubo de leche No.1 con 0,2 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 16 o/oo; 48 h. - 20 o/oo.

Con el tubo No. 1 se siembra el tubo No.2 con 0,25 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 16 o/oo; 48 h. - 20 o/oo.

Con el tubo No.2 se siembra el tubo No.3 con 0,3 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 10 o/oo, 48 h. - 12 o/oo.

Con el tubo No.3 se siembra el tubo No.4 con 0,35 cc. de fenol:

No hay desarrollo.

(1)Acidez normal 24 h. - 11 o/oo; 48 h. - 14 o/oo.

**EXPERIMENTO VIII.:**

50 cc. de suero con 0,15 cc. de fenol se siembra con el tubo No.2 del experimento VII.:

acidez 24 h. - 3 o/oo; 48 h. - 3,6 o/oo.

**EXPERIMENTO IX:**

50 cc. de suero con 0,15 cc. de fenol se siembra con el suero anterior de 48 h.;

acidez 24 h. - 4,2 o/oo; 48 h. - 4,2 o/oo.

Parece que la dosis inicial de 0,15 de fenol es demasiada alta.

**EXPERIMENTO X:**

50 cc. de suero con 0,1 cc. de fenol se siembra con el suero del experimento V de 10 dias;

acidez 24 h. - 10,5 o/oo,

después de 24 h. se agrega 0,1 cc. más de fenol;

acidez 48 h. - 11 o/oo.

Este suero se siembra en el tubo No. 1 de leche con 0,2 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 12 o/oo; 48 h. - 16 o/oo.

Con el tubo No.1 se siembra el tubo No.2 con 0,25 cc. de fenol:

acidez 24 h. - 9 o/oo; 48 h. - 12 o/oo.

Con el tubo No.2 se siembra el tubo No.3 con 0,3 cc. de fenol:

No hay desarrollo.

**EXPERIMENTO XI:**

50 cc. de suero con 0,1 cc. de fenol se siembra con el suero del experimento anterior de 48 h. ;

acidez 24 h. - 7 o/oo,

se agrega 0,1 cc. más de fenol:

acidez 48h. - 9,5 o/oo.

Con este suero de 48 h. se siembra un tubo No.1 con 0,2 cc. de fenol:  
acidez 24 h. - 7 o/oo; 48 h. - 11 o/oo.

Con el tubo No. 1 se siembra el tubo No.2 con 0,25 de fenol;  
acidez 24 h. - 6 o/oo.

Parece que la dosis inicial de 0,1 cc. de fenol en 50 cc. de suero esta bien en el grado de adaptación al cual ha llegado, pero la dosis total de 0,2 cc. de fenol es demasiado alta.-

Para llegar al grado más alto en la adaptación del bacilo, habria que seguir ese mismo metodo con la dosis inicial de 0,1 cc. de fenol, fraccionando las dosis anteriores y alternando los cultivos en suero con los cultivos en leche.

Como en los experimentos V y VII ha llegado a cultivar el bacilo Bulgaro en presencia de 15/1000 de fenol, dosis bastante alta, si consideremos, que a la dosis de 5/1000 el bacilo se desarrolla apenas y a la dosis de 10/1000 no se desarrolla del todo, consideré que he confirmado mi idea de la posibilidad de adptar el bacilo al fenol.

#### EXPERIMENTO XII:

El suero del experimento X se centrifuga 90 dias después con un ansa del sedimento se siembra un tubo de leche con 0,05 cc. de fenol;  
con este tubo se siembra 50 cc. de suero con 0,1 de fenol:

acidez 24 h. - 10,8 o/oo,

se agrega 0,1 más de fenol:

acidez 48 h. - 11,7 o/oo.

Este experimento es curioso porque recordamos que el suero del experimento X tiene 0,2 cc. de fenol lo que representa 4/1000 y después

de 90 días de contacto con esta dosis el bacilo no solamente no ha perecido, pero, al parecer, soporta al fenol mejor que antes.-

Recordamos tambien que el bacilo normalmente se conserva dificilmente en el cultivo en suero durante 90 días.

CONSERVACION DEL CARACTER ADQUIRIDO Y  
VUELTA AL TIPO PRIMITIVO.

EXPERIMENTO I:

Con el tubo No.5 de 48 h. del experimento VII. se siembra un tubo de leche sin fenol:

acidez 24 h. - 13 o/oo, 48 h. - 24 o/oo;

segundo pasaje:

acidez 24 h. - 20 o/oo, 48 h. - 25 o/oo.

Con este tubo se siembra el tubo de leche con 0,15 cc. de fenol:

No hay desarrollo.

EXPERIMENTO II.:

Con el suero del experimento X de 48 h. se siembra un tubo de leche sin fenol;

acidez 24 h. - 3,6 o/oo, 48 h. - 8 o/oo;

segundo pasaje:

acidez 24 h. - 15 o/oo, 48 h. - 18 o/oo;

tercer pasaje:

acidez 24 h - 20 o/oo, 48 h. - 24 o/oo.

Con el tubo anterior se siembra un tubo de leche con 0,15 de fenol;

No hay desarrollo.

Experimento III.:

El suero del experimento V se siembra después de 40 días en la leche sin fenol:

acidez 24 h. - 15 o/oo, 48 h. - 21 o/oo.

segundo pasaje:

acidez 24 h. - 21 o/oo.

Con el primer tubo se siembra un tubo de leche con 0,15 de fenol:

No hay desarrollo.

Examinando esos experimentos vemos que solamente en el experimento II el bacilo tiene menos desarrollo en la leche pura que en presencia del fenol y que en otros dos experimentos el cultivo en leche sin fenol es más activo que en leche con fenol. De los tres experimentos se ve que bastan algunos pasajes en leche sin fenol para devolver al bacilo su vigor primitivo y hacerle perder el caracter adquirido de desarrollarse en presencia de fenol.-



## C O N C L U S I O N E S

- 1.) El estudio del bacilo Bulgaro tiene, a más del interes, puramente científico, una finalidad práctica, siendo este bacilo de uso terapéutico muy difundido y de multiples aplicaciones en las industrias de fermentación.-
- 2.) La adaptación del bacilo Bulgaro al acido fénico es factible y puede tener su aplicación práctica en su uso terapéutico combinando la acción biológica del bacilo con la acción química del antiséptico.-
- 3.) La adaptación del Bacilo Bulgaro al acido fénico es solamente relativa, perdiendo facilmente el bacilo el caracter adquirido.-

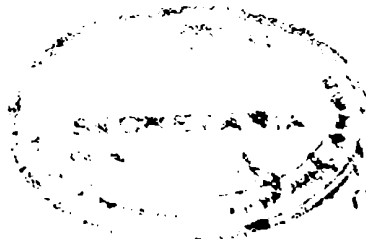
B I B L I O G R A F I A

Duclane	Microbiologie	Paris	año 1898
Macé	Traité de Bacteriologie	Paris	1913
Effront	Les Catalisateurs Biochimiques	Bruxelles	1914
De Backer	Ferments Therapeutiques	Paris	1896
Guareschi	Enciclopedia di Chimica	Torino	1910
Kayser	Microbiologie Agricole	Paris	1909
Richet	Comptes rendus de l'academie des Sciences		1892
"	" " Societé Biologique		1900
"	" " " "		1913
"	Annales de l'Institut Pasteur		1915
"	" " " "		1917
"	" " " "		1919
Cohendy	Comptes rendus Soc. Biol.		1906
"	" " " "		1909
Gruthari	" " " "		1908
Berthalot	" " " "		1910
Rosental	" " " "		1909
Rosental	" " " "		1910
Rosental et Berthalot	Bull. de Société de Therap.		1908
Rist et Koury	Annales de l'Inst. Pasteur		1902
Bertrand et Weisweller	" " " "		1908
Bertrand y Duchacek	" " " "		1909
Bertrand	Comptes rendus de l'Acad. de Sciences		1911
Effront	" " " "		1910
Effront	" " " "		1911

Dushacek	Annales de l'Inst. Pasteur	Paris	1915
Belonewsky	" " "	"	1907
Jeanin et Cyrille	Presse Medicinale	"	1918
Mazé	Revue Scientifique	"	1913
Martindale	The Extra Pharmacopoeia	London	1910
Metschnikoff	Annales de l'Institut, Pasteur	"	1915
Jacquemin	Emploi pratique en vinification des levures pures seleccionnées.	Nancy	1895
Boulard	Etudes et Recherches sur les levures.	Paris	1915

*Quenas Miris, Junio 7 de 1922*  
*Precedida en la fecha. Conté.*

*P. J. S. Santos*



*[Large, highly stylized signature or flourish]*