

## Tesis de Posgrado

# Contribución al estudio de algunas bacterias aerobias aisladas de aguas del Río de La Plata

Peso, Osvaldo A.

1944

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas 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:**

Peso, Osvaldo A.. (1944). Contribución al estudio de algunas bacterias aerobias aisladas de aguas del Río de La Plata. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0369\\_Peso.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0369_Peso.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Peso, Osvaldo A.. "Contribución al estudio de algunas bacterias aerobias aisladas de aguas del Río de La Plata". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1944. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0369\\_Peso.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0369_Peso.pdf)

CONTRIBUCION AL ESTUDIO  
DE ALGUNAS BACTERIAS AEROBIAS  
AISLADAS DE AGUAS DEL  
RIO DE LA PLATA

Oswaldo A. Peso

*Basil* 369

Quede aquí expresado mi profundo agradecimiento a mi padrino de tesis, Profesor Doctor Rogelio Trelles, Jefe del Laboratorio de las Obras Sanitarias de la Nación y al Profesor Doctor Raul Ferramola, Jefe de la Sección Microbiología de Aguas del referido Laboratorio, por la inestimable ayuda prestada en la elección del tema, indicaciones y revisión del texto del presente trabajo.

Agradecimiento que hago extensivo a las autoridades superiores del Laboratorio de las Obras Sanitarias de la Nación, que deferentemente me han permitido la realización de la parte experimental correspondiente.

## PLAN DE TESIS

### TITULO:

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE ALGUNAS BACTERIAS AEROBIAS AISLADAS DEL AGUA DEL RIO DE LA PLATA.

### PARTE TEORICA:

Objeto del Trabajo. Estudios análogos realizados en el extranjero sobre aguas de ríos, lagos, etc.  
Resultados obtenidos, técnicas utilizadas.  
Importancia del conocimiento de la flora del agua.

### PARTE PRACTICA:

- a) Extracción de las muestras y técnicas de estudio.  
Siembras. Elección del medio más apropiado para el desarrollo de las bacterias del río.  
Aislamiento. Temperatura de incubación; etc.  
Purificación de las cepas.
- b) Estudio morfológico  
Observación directa, movilidad.  
Coloraciones simples y especiales; cilias, esporos, cápsulas, Gram, ácido resistencia, etc.
- c) Estudio bio-químico  
Fermentación de azúcares, acción proteolítica, producción de indol, ácido sulfhídrico, reducción de nitratos, etc.
- d) Resultados obtenidos  
Tentativa de clasificación sistemática en base de los resultados obtenidos.  
Posibles aplicaciones prácticas.  
Discusión y conclusiones.

## S U M A R I O

- I - Introducción
- II - Antecedentes
- III - Material y métodos de estudio
- IV - Experiencias realizadas
- V - Agrupación de las bacterias estudiadas
- VI - Discusión de los resultados
- VII - Conclusiones
- VIII - Resumen
- IX - Apéndice
- X - Bibliografía

I - INTRODUCCION

Aunque la presencia de microorganismos en el agua fué demostrada en el siglo XVII por Leeuwenhoek, fué recién en el año 1871 que se comprobó con certeza la existencia de bacterias en dicho medio. El hallazgo se debe a Burdon Sanderson.

Los trabajos sobre el tema no abundaron y es así que en el año 1880, aparecen los trabajos de Miquel exponiendo métodos para su recuento. Más tarde (1897) Ward estudió las bacterias del agua y dió a publicidad su propia clasificación. En el año 1899, Fuller y Johnson retoman el problema e intentan una nueva clasificación de las bacterias del agua.

En base a la clasificación de Ward, Boyce y Hill (1900) enunciaron otra que difiere de aquella en ciertos detalles.

A partir del año 1900 los trabajos se hacen más abundantes y es así que en el año 1903, E.O. Jordan estudia las bacterias que se encuentran en el río Támesis y las clasifica siguiendo un orden personal, pero siempre atendiendo a los trabajos anteriores.

Los estudios sobre las bacterias del agua se dirigen principalmente a sus relaciones con la higiene; y los trabajos que se relacionan con la identificación de las aguas contaminadas y presunto contaminadas, son innumerables, siendo también grande el número de publicaciones que tratan del grupo Coli-Aerogenes, en aguas de ríos, lagos, pozos semisurgentes, etc.

Sin limitar el problema al punto de vista netamente higiénico; investigación de bacterias del grupo Coli-Aerogenes; algunos autores emprendieron la tarea de estudiar las bacterias del agua (Fresh water bacteria) y aclarar así los numerosos claros existentes en dicho capítulo de la microbiología.

Antes de citar dichos trabajos, diremos que las bacterias del agua se pueden agrupar para su estudio en tres grandes grupos:

- a) Bacterias propias del agua
- b) Bacterias del suelo
- c) Bacterias intestinales y de desperdicios.

En el primer grupo se encuentran las bacterias cuyo habitat lo constituye el agua; en dicho medio encuentran los microorganismos los materiales nutritivos y las condiciones necesarias para su vida saprófita.

Es principalmente en este grupo donde los claros y contradicciones se hacen más evidentes, reclamando un estudio intenso y tal vez la creación de nuevas normas para conseguir una agrupación correcta de los organismos que lo integran.

Las bacterias que existen en el agua y que provienen del suelo son abundantes y son aquellas que han podido adaptarse a las condiciones del nuevo habitat. El tercer grupo de bacterias es el que más importancia tiene desde el punto de vista higiénico. Son en general bacterias parásitas del hombre y su estudio se halla encaminado a la provisión de aguas libres de organismos dañinos para la salud.

Es Conn (1940) quien encara el problema de las bacterias naturales del agua desde un punto de vista que difiere del seguido por los autores que la han precedido. Asigna importancia fundamental a los caracteres morfológicos (coloración de Gram, ubicación de cilias y tendencia a presentar verdaderas o falsas ramificaciones o irregularidades en las formas de las células), datos que considera los más estables. Sigue a Conn, B.C. Taylor con una agrupación porcentual de las bacterias, atendiendo a unas cuantas características bioquímicas y morfológicas.

Las razones de esta manera de agrupar las bacterias las enuncia el mismo Taylor, recalcando que muchas de ellas modifican su actividad fisiológica lo que hace difícil su introducción dentro de la clasificación corriente.

Otras de las dificultades es que se encuentran muy probablemente distintas variedades de una misma especie lo que hace también complicada la identifica-

ción con los términos citados en la clave de Bergay. Con dichos términos hay algunas semejanzas y los grupos más activos fisiológicamente se los puede (aunque hay excepciones) clasificar.

En estos términos está planteado el problema en el año 1940.

Los trabajos de igual tipo en nuestro país son escasos y de allí que se pensó, si no iniciarlos, por lo menos ensaminarlos a una intensificación mayor que la actual.

La ausencia de trabajos que se refieran a las aguas superficiales de nuestro país, las cuales sólo han sido estudiadas en su aspecto sanitario (organismos indicadores de contaminación fecal) es lo que indujo a iniciar el estudio bacteriológico de aguas del Río de la Plata frente a la ciudad de Buenos Aires.

A semejanza de otros estudios que mencionaremos adelante, nuestro trabajo no debe entenderse como un estudio que pretenda abarcar todas las bacterias del agua del Río mencionado, sino, aquellas que desarrollan en las condiciones que hemos elegido. Tampoco se ha pretendido un estudio completo de los microorganismos aislados con el objeto de lograr su exacta clasificación dentro de la sistemática. Esta minuciosa tarea no fué planeada y a eso se debe las relativamente pocas reacciones de identificación efectuadas.

Se conocían las dificultades que representa un estudio sistemático de las bacterias del agua, sobre todo desde el punto de vista bio-químico; dificultades que luego fueron corroboradas durante el transcurso del trabajo experimental. Por dichas razones se redujeron las pruebas bioquímicas a las más esenciales evitando así una dispersión de las cepas estudiadas en un número grande de grupos.

La clasificación de las cepas estudiadas tiene carácter provisorio pues en muchos casos sería necesario comprobar la constancia de las características estudiadas durante mayor tiempo.

Por estos motivos se tratará además de exponer las características principales de las cepas aisladas del agua del Río de la Plata, clasificándolas en grupos caracterizados por determinadas cualidades ya sea bio-químicas o morfológicas (primando las segundas sobre las primeras) y la exposición porcentual de dichas cepas en base a propiedades importantes.

---

---

II - ANTECEDENTES

Ward en el año 1897 estudia los microorganismos del agua y tiene en cuenta para la clasificación de las bacterias del agua las siguientes características: (1)

- a) Pigmentación
- b) Licuación de la gelatina
- c) Presencia o ausencia de cápsulas
- d) Morfología

Estudia 80 cepas aisladas de aguas del Río Tánesis y las clasifica en 22 grupos siguiendo para esta agrupación los caracteres antes mencionados. Del gran número de grupos obtenidos, Ward concluye que las actividades de la mayoría de las cepas estudiadas se habían "debilitado" y que muchas variantes de la misma especie se hallaban presentes.

El siguiente trabajo de importancia aparece en el año 1899 y sus autores son Fuller y Johnson.

Estos investigadores realizan un estudio de las bacterias del agua intentando una clasificación de los microorganismos estudiados.

Los agrupan en dos clases:

- |                            |   |               |   |             |
|----------------------------|---|---------------|---|-------------|
| A) Bacterias fluorescentes | } | Cromogénicas  | { | Rojas       |
|                            |   | No cromógenas |   | Violetas    |
|                            |   |               |   | Amarillas   |
|                            |   |               |   | Anaranjadas |

Dentro de las cromógenas no se tienen en cuenta los caracteres de cultivo o bio-químicos.

- |                               |   |  |
|-------------------------------|---|--|
| B) Bacterias no fluorescentes | } | Se subdividen las bacterias por su distinto comportamiento frente a la gelatina e hidratos de carbono. |
|-------------------------------|---|--|

Al año siguiente Boyce y Hill dan a publicidad otro estudio que está relacionado con el de Ward.

El número de grupos que presentan estos autores es de 20 para la distribución de 107 cepas estudiadas; dentro de los 20 grupos hay 4 que son variedades de una o dos especies sin caracteres especiales de distinción.

Los 20 grupos son diferenciables por caracteres bio-químicos, culturales o cromogénicos no citando los caracteres morfológicos para establecer la división. Se describen a continuación los caracteres de los grupos principales.

GRUPO II: Bastones cromogénicos: producen pigmento violeta

Los microorganismos de este grupo tienden a perder por sucesivos cultivos la coloración violeta de sus colonias dando finalmente colonias blancas. Desarrollan a 20° y no a 37° actúan lentamente frente a la gelatina, acidifican la leche sin precipitar la caseína produciendo el pigmento en este medio. No producen gas en medios con glucosa ni indol pero sí el pigmento que los identifica.

(1) Los datos que se enuncian son extractados del trabajo de Taylor (ver más adelante), ya que la publicación no ha podido ser consultada.



- GRUPO III:** Bastones fluorescentes y licuantes.  
Las bacterias de este grupo dan en agar un pigmento verde y fluorescente desarrollando a temperaturas que oscilan entre 20° y 38° centígrados.  
No producen gas en glucosa, ni indol, y la leche es acidificada ligeramente y precipitada la caseína.
- GRUPO IV:** Bastones fluorescentes y no licuantes  
Según los autores tienen la propiedad las bacterias de este grupo de licuar la gelatina en forma inconstante (ver más adelante Jordan). Por lo demás sus características bio-químicas son las mismas que las de las bacterias del grupo anterior.
- GRUPO V:** Bastones que producen colonias incoloras, No licuantes  
Acidifican la leche sin precipitar la caseína, algunas cepas producen gas de glucosa y gelatina; existiendo sólo una cepa de las estudiadas por los autores que producía indol.
- GRUPO VI:** Protens comunes  
Son bastones móviles que licúan o no la gelatina, que acidifican la leche precipitando y peptonizando la caseína. Su característica más importante es la producción de mal olor en los cultivos. Frente a la glucosa no presentan un comportamiento constante en lo que se refiere a la producción de gas.
- GRUPO VII:** Protens amarillos  
Son semejantes en sus reacciones bio-químicas a los anteriores, la única diferencia es que sus colonias producen un pigmento amarillo.
- GRUPO VIII:** Bastones semejantes al Grupo VIII de Ward  
Bastones que forman colonias iridiscuentes, que licúan la gelatina lentamente y que producen pigmento tanto en agar como en papa. No producen gas de glucosa y acidifican la leche precipitando la caseína.
- GRUPO IX:** Bastones licuantes con colonias amarillo-oro  
Por sus caracteres bio-químicos se pueden agrupar dentro del grupo VII pero con la diferencia del pigmento que producen.
- GRUPO X:** Bastones no licuantes con colonias amarillo-oro  
Son considerados como posibles variedades del grupo anterior; no tienen acción constante frente a la leche y crecen muy lentamente. Las bacterias de este grupo pueden por sucesivos cultivos adquirir la propiedad de licuar gelatina.
- GRUPO XIII:** Bastones productores de colonias carmesí  
Se caracterizan estas bacterias por producir un pigmento carmesí y un olor semejante a la trimetilamina. Son buenos licuantes de la gelatina no perdiendo esta propiedad por sucesivos cultivos. Acidifican la leche, precipitan y peptonizan la caseína. Producen gas de glucosa dentro de las 48 horas.
- GRUPO XIV:** Bastones semejantes al Bacillus subtilis  
Licúan la gelatina; pero esta propiedad no es constante ya que

la pueden perder por sucesivos cultivos; es por esta causa que los autores consideran a este grupo como formado por bacterias difíciles de diferenciar.

Otra característica es la de formar una película sobre la gelatina cesa que también es dable observar en el agua de peptona.

**GRUPO XVI: Sarcinas de colonias esparillas**

El pigmento que es una de las características diferenciables del grupo, puede llegar a perderse por sucesivos cultivos, como así también puede variar las reacciones frente a la glucosa y el agua de peptona.

**GRUPO XIX: Micrococcos y formas redondeadas**

En lo que se refiere a la morfología en este grupo hay bacterias que toman la forma de levaduras y las que afectan la forma de estreptococos; son en general bacterias de vida precaria que mueren a los pocos cultivos.

Presentan acción variada frente a la leche; siendo la caseína peptonizada o nã.

El grupo ha sido dividido en tres sub-grupos, a saber:

**SUB-GRUPO A:** Micrococcos cromógenos. Sus colonias presentan coloración amarilla. De acción poco definida frente a la gelatina: mientras unas cepas suelen perder la acción licuante, otras pueden adquirirla. La propiedad resaltante es tal vez la tendencia a perder la coloración. Se debe citar que no producen gas en glucosa, lactosa y otros azúcares.

**SUB-GRUPO B:** Organismos que no se hallan comprendidos dentro del orden de las Eubacteriales. Son aquellos que se asemejan a los tipos de los géneros: Cladethrix y Saccharomyces. Sus características principales son las de producir un pigmento marrón o rosa, o no producirlo; desprender mal olor, licuar la gelatina y acidificar la leche.

**SUB-GRUPO C:** Levaduras

**NOTA:**

Se habrá observado que no se citan en la síntesis del trabajo de Boyce y Hill algunos grupos y que la totalidad de ellos no son los 20 grupos de que se habló. El caso es que los autores no los enuncian por no haber encontrado bacterias pertenecientes a esos grupos que por otra parte corresponden a la descripción de Ward.

Edwin Jordan (1903) Es tal vez el investigador que profundizó el tema con mayor intensidad.

Este autor intenta otra clasificación de las bacterias del agua, teniendo en cuenta las características culturales, morfológicas y bio-químicas de ellas. En su clasificación tiene en cuenta las anteriormente propuestas por Ward, Fuller y Johnson, Boyce y Hill. De ellas considera como más adecuada la de los autores nombrados en segundo término, pues hace resaltar las principales propiedades de los organismos; propone el agregado de subdivisiones en cada grupo.

ESQUEMA DE LA CLASIFICACION DE JORDAN

<u>GRUPO</u>	<u>TIPO</u>
I	B. coli communis
II	B. lactis aerogenes
III	B. proteus
IV	B. enteritidis
V	B. fluorescens liquefaciens
VI	B. fluorescens non liquefaciens
VII	B. subtilis
VIII	Sin fluores., ni esporos, no prod. gas, licúan gel., acid. leche
IX	Semejante a VIII, alcalinizan la leche
X	Semejante a VIII, no licúan gelatina
XI	Semejante a IX, no licúan gelatina
XII	Semejante a XI, no alteran reacción de la leche
XIII	Cromógenos que no figuran en grupos anteriores
XIV	Cromógenos estafilococos
XV	Estafilococos no cromógenos
XVI	Sarcinas
XVII	Streptococos

GRUPO I:

Son bastones móviles que coagulan la leche rápidamente con o sin posterior disolución de la coagulación; son fermentadores de glucosa, lactosa y algunas veces de sacarosa. En medios con glucosa producen gas (Hidrógeno y Anhídrido Carbónico) con predominio del Hidrógeno; la relación es  $H : 2 CO_2$ . No licúan la gelatina dentro de los 10 días;

la producción de Índol no es uniforme.

La especie tipo de este grupo es el B. coli que Jordan divide en dos sub-grupos:

- Tipo coli
- A) Fermenta glucosa, lactosa, sacarosa: B. coli-communior (Durhan, J. of Exp. Med. 1901)
  - B) Fermenta glucosa y lactosa: B. coli communis verus

Estudió en total 45 cepas pertenecientes a este grupo; de las cuales 25 pertenecen al sub-grupo A y 21 al sub-grupo B. Los dos grupos en que divide al tipo coli son los que actualmente conocemos por:

El subgrupo es el Escherichia coli y el sub-grupo A una variedad de esta especie que se diferencia por fermentar sacarosa pero no salicina.

La diferencia que cita Jordan (la de no fermentar sacarosa por parte del E.coli) no es absoluta ya que el E.coli puede o no fermentar sacarosa (Bergey).

### GRUPO II:

Bastones no móviles que coagulan la leche muy lentamente (diferencia del grupo anterior).

La especie tipo B.lactis aerogenes.

Divide Jordan este grupo en dos sub-grupos, a saber:

A): Bacterias fermentadoras de glucosa, lactosa y sacarosa.

B): Bacterias fermentadoras de glucosa y lactosa.

Estudia en total 27 cepas de este grupo; perteneciendo 16 al sub-grupo A y 11 al sub-grupo B.

La diferencia entre los grupos I y II es por los caracteres antes dados demasiado imprecisa y eso ya lo hace notar el mismo autor; en realidad le faltan las reacciones del grupo coli-aerogenes para establecer una verdadera división.

Como apéndice a este grupo incluye 29 cepas no precisamente diferenciadas de los grupos I y II. Del grupo I, sub-grupo A, tienen la característica de producir indol en forma inconstante. No existe en ninguna de estas cepas una relación entre la movilidad y la producción de indol.

### GRUPO III:

Bastones móviles, fermentadores de glucosa, sacarosa y a veces lactosa; licúan rápidamente la gelatina y precipitan y disuelven la caseína.

Establece tres sub-divisiones a saber:

A) : Especie tipo Proteus vulgaris. Fermentadores de glucosa y sacarosa con producción de ácido y gas; ni ácido ni gas de lactosa. Licúan la gelatina y digieren la caseína y el suero. Producen indol, acidifican la leche y la coagulan. Son móviles.

Muchas cepas de este sub-grupo tienden a producir pigmentos amarillos y ya Ward citaba proteus amarillos, relacionándolos con B.radiatus, B. ochraceus y B. arboreus.

B) : Se sitúan en este sub-grupo variedades de proteus. Se basa esta sub-division en la afirmación de Hauser (1885) de que las variedades de proteus licuantes se podían transformar en las no licuantes. Ward describió cepas no licuantes de la gelatina, afirmando que esa propiedad era atenuada por la vida acuática.

De las cepas no licuantes aisladas por Jordan están las siguientes:

- a) Que licúan el suero coagulado
- b) No licúan el suero coagulado

- c) No digieren la caseína
- d) Licúan la gelatina dentro de los 20 a 40 días
- e) Licúan la gelatina dentro del mismo lapso anterior pero no digieren la caseína y el suero no es licuado
- f) Acidifican muy ligeramente la leche sin coagularla
- g) Se comportan frente a la leche como las anteriores pero no digieren ni la caseína ni licúan el suero.

C): Especie tipo B. cloacae. Son bastones que fermentan sacarosa y lactosa; esta última lentamente. La licuación de la gelatina es irregular: unas cepas la licúan rápidamente, otras lentamente y unas terceras dentro de los 30 a 40 días habiendo finalmente las que no la licúan.

Son bacterias móviles que acidifican la leche coagulándola y peptonizando la caseína. La producción de indol es irregular, es producida por algunas cepas.

Las bacterias de este grupo son semejantes al proteus por su morfología, "habitat", acción sobre los azúcares y actividad proteolítica que es mayor que en el proteus. Son según el autor "bacterias que presentan un equilibrio biológico poco estable".

#### GRUPO IV:

Son también bacterias móviles relacionadas con las bacterias del grupo coli, pero que sólo fermentan glucosa no fermentando sacarosa ni lactosa. Alcalinizan fuertemente la leche disolviendo la caseína.

De las seis cepas estudiadas sólo cinco producen indol en pequeña cantidad. La especie tipo es el B. enteritidis.

#### GRUPOS V Y VI:

Incluye las cepas fluorescentes. Se estudiaron 58 cepas situándose 33 en el grupo V que incluye las bacterias que licúan la gelatina, y 25 en el grupo VI que agrupa las que no la hacen. Las bacterias licuantes de la gelatina tienen además la propiedad de acidificar la leche más o menos intensamente coagulándola y peptonizando rápidamente la caseína.

Por el contrario las bacterias que no licúan la gelatina alcalinizan fuertemente la leche sin coagularla.

Jordan, contrariamente a lo que observaron Boyce y Hill, no encontró bacterias que readquirieran el poder licuante.

Las características principales de las bacterias de estos dos grupos son las siguientes:

La producción de indol y reducción de nitratos no es constante, muchas cepas dan positivo luego de dos o tres ensayos y dan negativo al cuarto.

El crecimiento a 37°C. tampoco es constante; de los 58 cultivos estudiados 25 de las formas no licuantes y tres de las formas licuantes desarrollan en forma incipiente.

Casi todas las cepas estudiadas producen olor desagradable en caldos nutritivos, dependiendo dicho olor de la edad de la cepa

y del grado de crecimiento.

En lo que a morfología se refiere se debe mencionar que son pequeños bastones móviles e inmóviles y de tamaño variable. Se citan como especies en este grupo las siguientes:

Bacillus scissus (Frankland), Bacillus patricus (Flügge)

B. fluorescens ovalis, B. striatus viridis, B. fluorescens liquefaciens y non liquefaciens, etc.

#### GRUPO VII:

Bastones esporógenos, que pertenecen al grupo subtilis.

En este grupo sitúa el autor 46 cepas que se pueden sub-dividir en 5 sub-grupos a saber:

- A): Integrado por 26 cepas, que pertenecen al grupo subtilis propiamente dicho. Son bacterias que producen colonias blancas, que licúan la gelatina, reducen los nitratos y acidifican la leche coagulándola.
- B): Constituido por 14 cepas que licúan rápidamente la gelatina. La mayor parte de ellas coagulan la leche mientras que otras solamente la acidifican; son reductoras de nitratos. El indol es producido sólo por algunas cepas. Difieren según Jordan, del grupo subtilis por su morfología. Se indica como especie tipo el B. mesentericus fuscus vero y las variedades B. mesentericus ruber, B. mesentericus vulgatus.
- C): Incluye 4 cepas. Las formas vegetativas de ellas son bastones cortos, gruesos inmóviles, que dan formas de involuación largas. Son bacterias que sobre el agar dan colonias amarillas, que reducen los nitratos y que alcalinizan la leche coagulándola.
- D): Una cepa, que difiere por su morfología de los grupos A y B; se halla relacionada con el B. megatherium. Se trata de bastones largos móviles, que licúan gelatina, reducen los nitratos y alcalinizan la leche acelerando lentamente el tornasol.
- E): Bacterias que presentan esporos; que no licúan la gelatina y que alcalinizan la leche.

#### GRUPO VIII:

Bastones que licúan la gelatina y acidifican la leche.

Se trata de bacterias que bien pueden incluirse en el grupo XIV de Ward (Bacterias que producen colonias no coloreadas y que licúan la gelatina rápidamente), constituyendo según el autor antes mencionado, uno de los grupos que más distribuido estaría en el Támesis. A pesar de ello Boyce y Hill no le mencionan en su clasificación (Ver anteriormente).

Jordan estudió en este grupo 74 cepas que se distribuyen en la siguiente forma:

62 cepas que acidifican y coagulan la leche	$\left\{ \begin{array}{l} 48 \text{ cepas móviles} \\ 14 \text{ inmóviles} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 24 \text{ son indol positivas, siendo 6 de ellas reductoras de nitratos.} \\ 6 \text{ cepas indol positivas} \\ 3 \text{ cepas son reductoras de nitratos} \end{array} \right.$

12 cepas acidifican la leche sin precipitar la caseína. Son cepas móviles, produciendo algunas de ellas indol y reduciendo los nitratos.

En general de las 74 cepas que se agrupan aquí se puede decir que crecen bien a 37°C, que licúan la gelatina la mayor parte de ellas y que son anaerobias facultativas.

Las cepas de este grupo se acercan mucho al grupo proteus, citán dese en él las siguientes especies:

B. putrefactus, B. devorans, B. albus putridus (Masohok), B. cyreniensis, B. hyalinus, B. deliastulus, B. pestifer, B. diffusus, B. superficialis, B. radiatum, etc. B. thermo, B. liquidus (Eisenber)

#### GRUPO IX:

Bastones que licúan la gelatina y alcalinizan la leche. Está integrado este grupo por 30 cepas, distribuidas en la siguiente forma:

25 cepas	$\left\{ \begin{array}{l} 18 \text{ cepas móviles, no productoras de indol; que crecen bien a } 37^{\circ}\text{C. Solo 5 de estas cepas digieren la caseína.} \\ 7 \text{ cepas inmóviles que se comportan presentando los mismos caracteres que las cepas anteriores, salvo dos que son indol positivas.} \end{array} \right.$

Las restantes cinco cepas alcalinizan también la leche y presentan únicamente 3 cepas móviles.

Incluye el autor dentro de este grupo las siguientes especies: B. formosus, B. liquidus, B. esteloniferus, B. ambiguus.

#### GRUPO X:

Bastones que no licúan la gelatina y acidifican la leche. Dentro de las 91 cepas que menciona Jordan en este grupo y las dos siguientes se incluyen las 16 cepas estudiadas por Ward y las 20 estudiadas por Boyce y Hill y que presentan las características enunciadas.

Según Ward se trata de bacterias que son muy abundantes en el río en verano y las distingue por la inconstancia de la producción de

gas, acción patógena y coagulación de la leche.

Jordan no las agrupa dentro del grupo coli porque en realidad no son verdaderas productoras de gas a partir del caldo azucarado. En este grupo se cuentan 32 cepas distribuidas como se indican a continuación:

13 cepas son coli típicas, de las cuales 2 son reductoras de nitratos y dos indol positivas. En lo que a movilidad se refiere, solo 6 cepas son inmóviles.

Las 19 cepas restantes acidifican la leche sin coagularla; 6 cepas son productoras de indol y del total son 13 las que son inmóviles. Si las 13 cepas citadas en primer término son variedades de coli se hallan ausentes de ellas cuatro características principales: producción de gas, reducción de nitratos, producción de indol y movilidad.

Entre las cepas móviles o no citadas entre las 19 últimas, posiblemente existan muchas especies citadas por otros autores con nombres distintos; si se une a esto la descripción limitada se ve la imposibilidad de relacionarlas.

Se citan aquí las siguientes especies: B. punctatus, B. acidilactici, B. limbatum, B. lacticum, B. equi intestinalis, y B. arborescens.

#### GRUPO XI:

Bacterias que no licúan la gelatina y que alcalinizan la leche.

Se incluyen aquí 29 cepas que con las 30 citadas en el grupo siguiente forman las 91 cepas de que habíamos.

13 de las 29 cepas son móviles, crecen bien a 37°C, no reducen los nitratos y no producen indol.

Las 16 restantes son cepas inmóviles.

En general de este grupo se puede decir, que son bastones pequeños e medios (se estudió un baston no móvil que presentaba formas filamentosas y otro largo que presentaba gránulos proteoplasmáticos).

Jordan los relaciona con las siguientes especies: Cepa N° 98 y Cepa N° 95 de Conn., B. pinatus, B. solitarius, B. geminis, B. primus, etc.

#### GRUPO XII:

Bacterias no licuantes de la gelatina y que no producen cambio en la leche o que producen poco.

Son bacterias aisladas de la gelatina y se incluyen las 30 cepas de que se hablaba más arriba.

Se dividen en la siguiente forma:

- |   |   |   |
|---|---|---|
| 12 cepas con características del grupo tífico | { | <p>8 cepas inmóviles, que alcalinizan glucosa.</p> <p>1 cepa móvil con poco desarrollo a 37°C.</p> <p>1 cepa móvil que morfológicamente es más pequeña que el tífico.</p> |
|   | { | <p>14 cepas con colonias transparentes, de poco crecimiento y con organismos de difícil tinción</p>   |



18 cepas inmóviles  
que no producen  
cambio en la leche

4 cepas constituidas por bastones  
cortos, casi esccoides

Como especies citadas por Jordan mencionaremos las siguientes:  
B. aequalis sulcatus, B. refractans, B. redonatus, etc.

#### IFO XIII:

Constituido por bacterias que son productoras de colonias coloreadas.

Este grupo se subdivide en tres subgrupos, caracterizados por los distintos colores producidos por las colonias.

A) Colonias rojas. Se estudian 2 cepas.

Una cepa muy parecida al B. prodigiosum, siendo sin embargo el pigmento más violeta. No produce gas de glucosa.

La otra cepa es inmóvil, licúa lentamente la gelatina y alcaliniza la leche.

B) Colonias anaranjadas. 7 cepas.

Todas ellas crecen bien a 37°C; 5 son móviles licuantes de la gelatina y de ellas 3 son indol positivas y solo una coagula la leche sin acidificarla; las restantes la acidifican.

Las 2 cepas restantes son bastones gruesos inmóviles, que licúan lentamente la gelatina y que alcalinizan la leche.

C) Colonias amarillas.

Entre este subgrupo y el anterior no existe una diferencia neta debido a la variedad de tonos que se puede tener entre el amarillo y el anaranjado. Se halla integrado por 7 cepas. 3 licúan la gelatina (dos lentamente) y alcalinizan ligeramente la leche.

4 cepas constituidas por bacterias medias inmóviles, no licúan la gelatina, y dos de ellas coagulan la leche y peptonizan la caseína.

Anota Jordan que este subgrupo se halla relacionado con el grupo proteus, faltándole la producción de gas.

Como especies relacionadas con las cepas de este grupo, mencionaremos las siguientes:

Con el subgrupo A):

B. ruber balticus, B. plymouthensis y B. miniscopus

Con el subgrupo B):

La especie tipo es la S. aurantifera, citándose además: B. flavus, B. arboriensis y B. aurescens.

Con el subgrupo C):

Especie tipo S. lutea, Incluye además: B. lactis erythrogenes, B. radiatus, B. ochraceus, etc.

#### IFO XIV:

Micrococcus chromogenes

Grupo integrado por 14 cepas, distribuidas en la siguiente forma:

9 cepas amarillas.

	{ 1 cepa alcaliniza la leche 5 cepas reducen los nitratos y son productoras de indol.	{ 1 cepa alcaliniza la leche; otra no produce cambio y las restantes la coagulan.
6 cepas licuantes de la gelatina		

3 cepas no son licuantes de la gelatina y alcalinizan la leche.

5 cepas rojas.

No son licuantes de la gelatina, reducen los nitratos y alcalinizan la leche. Una cepa es abundante en el río Illinois.

GRUPO XV:

Micrococcos no cromógenos.

Fernado por 35 cepas, divididas en la siguiente formas:

27 cepas no licuantes.

7, alcalinizan la leche, peptonizando la caseína. Crecen bien a 37°C.

13, acidifican la leche ligeramente y no la coagulan dentro de los 15 días.

5, no producen cambio en la leche.

De las 18 cepas mencionadas en último término hay 3 cepas que no desarrollan a 37°C y 2 que reducen los nitratos.

La especie tipo de este subgrupo, es el *M. sandicans*, y se cita además el *M. aqualitis*, así como las cepas Nos. 47 y 85 de Conn.

8 cepas no licuantes.

Acidificantes de la leche, coagulándola y peptonizándola 5 cepas. De las acidificantes únicamente, no se observa desarrollo a 37°C.

De estas cepas la especie tipo es el *M. coronatus*, además *M. acidilactis* y *M. simplex*.

GRUPO XVI:

Sarcinas.

Se citan 3 cepas. Una de ellas licúa lentamente la gelatina, acidifica la leche y las otras dos no licúan la gelatina y alcalinizan la leche. La primera dá pigmento amarillo y las últimas no.

GRUPO XVII:

Estreptococos.

Son cuatro cepas.

Los estreptococos no persisten fuera del organismo y su presencia en el agua es indicio de contaminación animal o humana. De las cuatro cepas aisladas una es licuante de la gelatina y las tres restantes no.

C.B. Taylor (1940-1942)

Se refieren los trabajos de este autor (algunos de ellos en colaboración de Lechehead) a las bacterias de aguas de ríos y lagos ingleses y las de suelos canadienses. De nuestro interés solo mencionaremos aquellos que se refieren a las bacterias de aguas de lagos y vertientes de Inglaterra; ya sea en la distribución como en los tipos presentes.

El estudio de las bacterias del agua efectuados por este investigador aunq. semejante en algunos puntos al de otros autores, tiene características que lo distinguen.

Estudia Taylor 800 cepas, siendo el número de reacciones ensayadas para cada una de ellas relativamente pequeño; distribuyéndose las bacterias estudiadas en pocos grupos (ocho).

La clasificación de las cepas aisladas presenta según Taylor enormes dificultades. En realidad ninguno de los organismos aislados concuerda exactamente con las descripciones de la clave de Bergey, ni aún aquellos que debi- do a su mayor actividad fisiológica serían más fáciles de clasificar.

Las características principales de los 8 grupos de Taylor son las siguientes:

GRUPO I:

Se clasifican en este grupo 25 cepas constituidas por organismos que forman colonias grisáceas en agar nutritivo, siendo su crecimiento en dicho medio abundante. Las colonias son lisas, viscosas.

Se trata de bastones largos, agrupados, Gram negativos, que alcalinizan glucosa ligeramente, desarrollan poco en gelatina no licuándola. En medios nitrados no desarrollan.

GRUPO II:

Agrupar 35 cepas, que dan colonias lisas, viscosas, enteras, opacas de color amarillo.

Son bastones cortos, Gram negativos, que acidifican la glucosa y no producen cambio en la leche y la gelatina no es licuada, lo mismo que no son reducidos los nitratos.

GRUPO III:

Las 5 cepas que lo integran dan colonias abundantes en su crecimiento, lisas, opacas y elevadas, formando en la superficie del medio de cultivo que contiene glucosa una película roja.

Se trata de colonias rosadas.

Son bastones cortos entre los que suelen aparecer algunos largos: no producen otro cambio que el ya mencionado en glucosa, en la gelatina la colorean de marrón sin licuarla. No desarrollan en medios nitrados y la leche no es alterada salvo con la formación de una película como la glucosa.

Son Gram negativos.

GRUPO IV:

6 cepas que dan colonias grisáceas, que colorean el agar de oscuro. El crecimiento en dicho medio es bueno y las colonias son lisas y opacas.

Los organismos que integran este grupo son vibriones, que alcalinizan glucosa, licúan generalmente la gelatina, no reducen los

nitratos y no producen cambio en la leche o la alcalinizan.

**GRUPO V:**

Son 29 cepas que producen colonias grises filiformes en medios semisólidos.  
Morfologicamente son bastones cortos, de los que no se mencionan sus principales reacciones por no admitir subcultivos.

**GRUPO VI:**

Las 14 cepas producen un buen desarrollo en agar, con colonias lisas, enteras, opacas y de color pardo.  
Son bastones largos que se asemejan por su forma a embutidos (long sausage sharp rods) Gram negativos.  
No producen cambio en medios glucosados, no licúan la gelatina, no reducen los nitratos y no alteran la leche.

**GRUPO VII:**

7 cepas que producen colonias grisáceas, lisas y translúcidas.  
Los bastones medios o largos que las integran, son Gram negativos; alcalinizan glucosa, no licúan la gelatina, reducen los nitratos y no producen cambio en la leche ternasolada.

**GRUPO VIII:**

Este último grupo se halla constituido por 10 cepas que presentan colonias de color marrón rojizo, lisas, enteras opacas.  
El crecimiento en agar es bueno.  
Son bastones cortos, aunque existen algunas formas largas, Gram negativos. Sus reacciones frente a los medios que se han venido citando, no son muy homogéneas: la glucosa es ligeramente acidificada, la gelatina puede ser o no licuada, los nitratos no reducidos y la leche no alterada por algunas cepas y peptonizada por otras.

En sus conclusiones Taylor cita los resultados siguientes:

GRAM	-	ESPOROGENOS	LICUACION DE GELATINA	RED. NITRATOS	GLUCOSA	FERMENTACION DE (ACIDO Y GAS)
95%		6%	21%	26%		5-6%

El número de cocos encontrados es relativamente pequeño, siendo también pequeño el número de bacterias Gram positivas aisladas. En lo que se refiere a esta coloración, es de hacer notar que el número de cepas aisladas que presentaban una coloración poco neta. Muchas eran Gram negativas, haciéndose positivas con el envejecimiento de los cultivos.

En general los caracteres bioquímicos de las bacterias aisladas son poco netos, no admitiendo muchas de ellas prolongados subcultivos (alguna ni uno) y siendo muy lábiles pueden llegar a desaparecer. El problema se agrava si se tiene en cuenta que los medios de diferenciación no son fáciles de seleccionar y aún en los medios de estudio muchas de las bacterias no desarrollan; así por ejemplo en los medios glucosados, muchas cepas no desarrollan, otras acidifican ligeramente el medio o lo alcalinizan, siendo muy pequeño el número de las que producen ácido y gas.

Lo dicho para la glucosa se puede repetir para los medios nitrados y la leche: o no desarrollan o dan una reacción muy variada y débil.

De todo lo anterior concluye Taylor que: Las bacterias del agua no se pueden clasificar por las reacciones bioquímicas, siendo esta conclusión tan general que se puede aplicar a todas las bacterias excluyendo a las bacterias

del cuerpo.

En realidad esta clasificación no es exclusiva del autor que citamos, pues en el año 1940 Conn y colaboradores decían que sería mejor clasificar las bacterias del agua por la coloración del Gram, características de las células y tendencia a formar verdaderas o falsas ramificaciones en las células.

Otros autores que se han ocupado del tema llegan a afirmar que no se puede hablar de bacterias naturales del agua, ya que este medio no tiene flora bacteriana propia. Desde luego dichos autores hacen aparecer las bacterias que se encuentran en el agua como provenientes del suelo.

En el trabajo de Taylor aparecen cuadros comparativos de las propiedades y características de las bacterias del agua y del suelo que consideramos de interés transcribir.

#### BACTERIAS DEL SUELO, TOPPING 1937.

1	Gram + móviles, ramificados .....	23,0	%
2a	Gram + inmóviles, bastones .....	31,1	%
2b	Gram + inmóviles, forman micelio .....	19,0	%
3	Gram - móviles o inmóviles .....	26,7	%

#### BACTERIAS DEL SUELO, TAYLOR Y LOCKHEAD, 1938

625 cepas

##### GRUPOS

I	Bastones cortos, Gram + .....	27,6	%
IV	Bastones cortos, formas coccoides (globiformes) .....	9,1	%
V	Formas coccoides, Gram + .....	6,0	%
II	Bastones cortos, Gram - .....	36,1	%
III	Bastones cortos Gram variable .....	9,4	%
VI	Cocos, Gram + .....	3,8	%
VII	Bastones largos no esporulados .....	3,8	%
VIII	Bastones esporulados .....	3,8	%

#### BACTERIAS DEL AGUA, 671 cepas

Bastones Gram - .....	95,5	%
Bastones Gram + .....	3,8	%
Cocos .....	0,7	%

Según Taylor las principales características de las bacterias del agua son las siguientes:

Son en general bacterias en forma de bastones, Gram negativas, siendo las Gram positivas poco frecuentes, pleomórficas, de poco desarrollo en los medios de cultivo de laboratorio, de acción poco neta y constante frente a la glucosa, que no coagulan la leche y en general frente a ese medio de cultivo presentan una acción poco constante.

**XXI - MATERIAL Y METODOS DE ESTUDIO****MATERIAL:**

Las cepas estudiadas fueron aisladas de cultivos realizados con muestras de aguas extraídas durante los meses de mayo a agosto del año 1943. El lugar de extracción fué en todos los casos salvo en dos ocasiones; el túnel que lleva el agua del Río de la Plata, desde la toma a la planta de purificación. Las dos excepciones citadas fueron muestras de aguas extraídas de cercanías de boya Km 8 y de un lugar intermedio a Tema Nueva y Tema Vieja.

La siembra de dichas muestras se efectuó antes de las 24 horas en los meses de verano y antes de las 12 horas en los de invierno; en cualquiera de las épocas citadas el estacionamiento de las muestras hasta el momento de la siembra se hizo en heladera.

**METODOS DE ESTUDIO:**

La selección del medio más apropiado para el desarrollo de los organismos del agua, es una tarea que encierra numerosas dificultades. Antes de tratar este problema nos referiremos a las técnicas utilizadas por anteriores autores.

Citaremos en primer término la técnica seguida por E. Jordan; por ser la que más interés despierta debido a su planteo. Los 543 cultivos que estudió eran provenientes de muestras de aguas recogida del río Tánesis y cultivada dentro de las tres horas de extracción.

En su trabajo el autor comienza una frase que ha sido comprobada por los investigadores que han abordado el estudio de las bacterias del agua.

**"NO HAY MEDIO DE CULTIVO SIMPLE QUE PERMITA EL DESARROLLO DE TODAS LAS BACTERIAS DEL AGUA".**

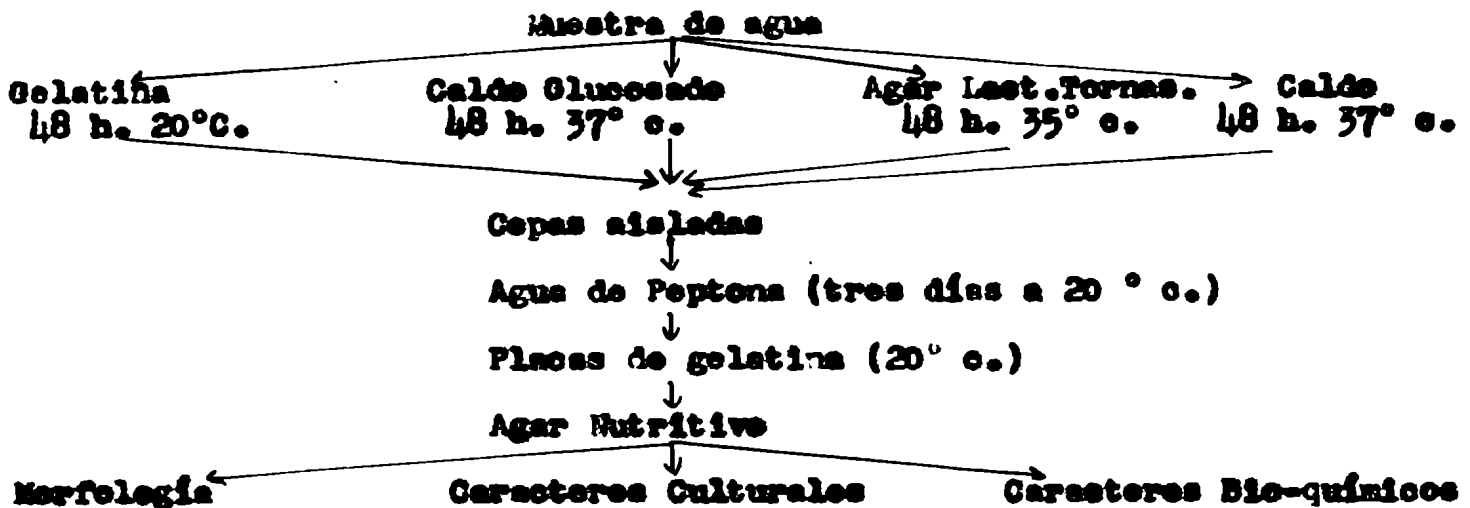
Utiliza para el aislamiento cuatro métodos de cultivo distintos:

- a) Placas de gelatina incubadas 48 horas a 20°C
- b) Caldo glucosado incubado 48 horas a 37°C
- c) Placas de agar lactosado y ternasolado incubadas 48 horas a 35°C.
- d) Caldo nutritivo con rojo neutro (como indicador) incubado 48 horas a 37°C.

Las cepas aisladas de los medios citados son rejuvenecidas por incubación durante tres días a 20°C. en agua de peptona y luego son pasadas a placas de gelatina, las que incubadas a 20°C. van a dar origen a los cultivos puros que se mantienen en agar nutritivo.

Sobre las cepas así aisladas se practican las distintas reacciones y observaciones utilizando medios apropiados:

- a) Para fermentación de azúcares, medios neutros a la fenoltaleína.
- b) Gelatina, agar y caldo nutritivo con un P.H. de 6,8
- c) Leche ternasolada observada hasta los diez días.

ESQUEMA DE LA TECNICA DE JORDAN

La técnica seguida por C.B. Taylor se reduce al empleo de un solo medio de cultivo para la siembra de las muestras de agua y posterior aislamiento de las cepas a estudiar.

El medio de cultivo elegido lo fué previo estudio de varios medios que debían emplearse en el recuento de los microorganismos de aguas de lagos ingleses. Dichos medios son los siguientes:

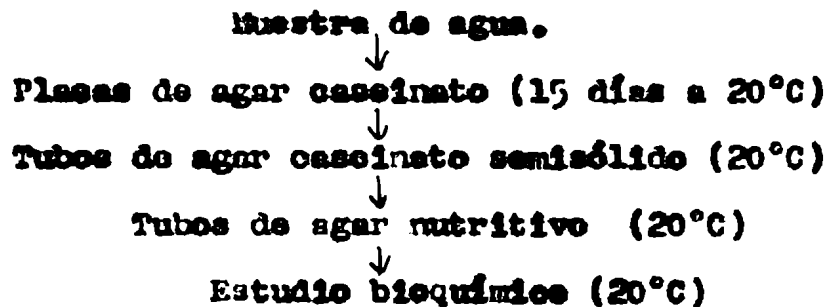
- a) Agar caseinato de sodio
- b) Agar con residuos de agua de lago llevada a sequedad
- c) Agar con asparagina y manita
- d) Agar nutritivo
- e) Gelatina nutritiva

Del estudio de los cultivos efectuados en ellos surge un mayor recuento para el medio de agar caseinato. Este medio que ya fué empleado por Stark y Mc Coy en 1938 y tiene la ventaja de que sus componentes inorgánicos están presentes en tan pequeña cantidad que el efecto de las posibles variaciones en distintas partidas de medio de cultivo es prácticamente nulo; es decir, se puede llegar a casi una standardización perfecta del medio de cultivo. Por otra parte se asemeja cuantitativamente al contenido de sales del agua.

Su composición puede verse en el apéndice al final del presente trabajo. En lo que a la temperatura de incubación se refiere, también se encargó este investigador de ensayar la que producía un mayor recuento. Entre las temperaturas que ensayó están 16, 20 y 28 centígrados; llegando a la conclusión de que es más conveniente el empleo de la temperatura de 20° centígrados para la incubación de las placas de agar caseinato.

La técnica que siguió Taylor para su estudio cualitativo de las bacterias de aguas de lagos ingleses es la siguiente:  
Se cultivan las muestras de agua en placas de Petri con agar caseinato durante 15 días a 20°C., dichas placas se observan diariamente, aislando las colonias a medida que estas aparecen.  
Las cepas aisladas se cultivan en tubos con agar caseinato semisólido (0,45) e inclinado, incubando varios días a 20°C.  
Cuando las colonias aparecen se las pasan a tubos conteniendo agar nutritivo común inclinado, incubando a 20°C.  
Las colonias se estudian a tiempos variables (desde 48 hs a 7 días) realizando la coloración de Gram y las distintas reacciones bioquímicas a 20°C.

ESQUEMA DE LA TÉCNICA DE TAYLOR



En el estudio cuantitativo de las aguas de vertientes inglesas C.B.Taylor, hace un estudio selectivo del medio de cultivo más apropiado.  
En nuestro trabajo hemos ensayado antes de decidírnos a la elección de un determinado medio de cultivo, el citado medio de agar caseinato y los cuatro siguientes:

- 1) Agar nutritivo
- 2) Agar caseinato. De composición más simple que el empleado por Taylor
- 3) Agar con extracto de lino del Río de la Plata
- 4) Agar preparado con agua natural del Río de la Plata.

Los ensayos fueron realizados en la siguiente forma:  
Se hicieron diluciones decrecientes de una muestra de agua, ensayándose la de 1/10000.  
Se sembró 1 ml. en cada una de cuatro placas, incubando a 20°C. durante 7 días y haciéndose lecturas a las 24 hs, 48 , 3,4,5,6 y 7 días.

////



SIEMBRA DE 1 ml. DE AGUA DEL RIO DE LA PLATA.

MEDIO: Agar nutritivo. TEMPERATURA: 20°C.

Dilución del agua.	Placa N°	1er día	2º día	3er día	4º día	5º día	6º día	7º día	Promedio.
	1	-	4	6	8	8	10	10	10 colonias.
	2	-	7	9	9	11	11	11	
	3	-	6	7	7	7	9	9	
	4	-	6	6	6	7	10	10	

MEDIO: Agar caseinato (Taylor) TEMPERATURA: 20°C.

	1	-	20	22	27	31	31	35	30 colonias.
	2	-	25	25	25	26	26	27	
	3	-	27	30	30	32	36	40	
	4	-	30	32	32	35	35	37	

MEDIO: Agar caseinato. TEMPERATURA: 20°C.

	1	-	10	12	13	13	15	15	22 colonias.
	2	-	15	17	19	20	23	27	
	3	-	10	15	17	18	18	20	
	4	-	12	14	17	21	23	23	

MEDIO: Agar con agua natural. TEMPERATURA: 20°C.

	1	-	6	7	9	9	11	11	12 colonias.
	2	-	5	7	8	8	10	13	
	3	-	3	4	7	9	12	12	
	4	-	10	10	10	11	12	12	

Como conclusiones de estos ensayos puede decirse que el crecimiento fué bueno en todos los medios estudiados; encontrándose el mayor recuento en agar caseinato de Taylor. Hay que señalar que los recuentos en el medio preparado a base de agua natural del río eran menores que en otros medios.

#### TEMPERATURA DE INCUBACION MAS APROPIADA

En la elección de este factor, se siguió la experiencia de Taylor; el que estudió las distintas temperaturas, con recuentos en un medio ya elegido. Las temperaturas estudiadas por dicho autor fueron como ya se dijo: 16, 20 y 28°C. Llegando a la conclusión de que la temperatura óptima era la de 20°C. Por otra parte la temperatura mencionada es reconocida como la óptima para el desarrollo de las bacterias del agua, claro que a 37°C. aparecen los microorganismos de contaminación (bacterias del cuerpo) que algunos autores consideran como constituyentes de la flora normal del agua. Si bien es cierto que a 37°C aparecen las bacterias de contaminación, también hay que decir que muchas bacterias naturales del agua no desarrollan; cosa que fué dable observar: ya que muchos tubos que se inocularon con cultivos aislados en la forma descripta, e incubados a 37°C. no produjeron desarrollo.

Es por esta razón que no se estudió los recuentos a 37°C; ya que si esos hubieran sido los mayores entre todas las temperaturas estudiadas no se habría elegido esa temperatura por no representar la temperatura óptima para las bacterias naturales del agua. No consideraremos en este trabajo como constituyentes de la flora normal del agua a las bacterias de contaminación.

Topley y Wilson citan como temperatura óptima para el desarrollo de las bacterias del agua la de 25°C; es por eso que se creyó conveniente ensayar esta temperatura al tiempo que se ensayaba la de 20°C.

El ensayo se realizó en la siguiente forma:

Se sembró 1 ml. de agua en una dilución de 1/10000 en agar caseinato (Taylor) en placas de Petri.

El número de placas fué distinto en cada caso y los recuentos se hicieron diariamente durante 5 días.

#### TECNICA SEGUIDA PARA EL AISLAMIENTO

El aislamiento de las cepas estudiadas, se efectuó de acuerdo con el siguiente procedimiento:

De cada una de las muestras se hicieron con agua estéril las siguientes diluciones:

1/100, 1/1000, 1/10000, y 1/100000

y de cada una de ellas se sembró 1 ml en el medio de cultivo elegido.

Las placas de Petri se incubaron a 20°C. haciéndose recuentos a las 48 hs. 5, 10 y 15 días, aislado por observación diaria, las colonias que iban apareciendo.

Con dichas colonias se inoculaban tubos con agua de peptona, que luego se incubaron también a 20°C, durante 24 a 48 hs (hasta que apareciera turbiedad visible).

Se tomó material de esos tubos y se sembró por estria en Placas de Petri que contenían el medio de cultivo que había servido para la siembra original. Estas placas se incubaron a 20°C. y al cabo de 24 a 48 hs. (según fue-

SIEMBRA DE 1 ml. DE AGUA DEL RIO DE LA PLATA.  
DILUCION: 1/10000.

MEDIO: Agar caseinato. TEMPERATURA: 20°C.

Placa N°	1er. día	2° día	3er. día	4° día	5° día.	Promedio.
1	-	20	22	27	32	33 colonias.
2	-	25	25	26	26	
3	-	27	30	32	36	
4	-	30	32	32	35	
5	-	34	37	40	43	
6	-	21	24	25	27	
7	-	25	28	32	34	
8	-	21	25	28	30	
9	-	32	37	41	44	
10	-	15	17	19	23	
11	-	30	33	38	38	

SIEMBRA DE 1 ml. DE AGUA DEL RIO DE LA PLATA.  
DILUCION: 1/10000.

MEDIO: Agar caseinato. TEMPERATURA: 25°C.

Placa N°	1er. día	2° día	3er. día	4° día	5° día	Promedio.
1	-	23	25	25	25	25 colonias
2	-	27	28	29	29	
3	-	20	24	24	24	
4	-	19	20	22	22	

ra el tiempo requerido para el desarrollo); se picaron las colonias representativas pasándose el material así obtenido a tubos que contenían agar inclinado común, los que incubados a 20°C., servían para efectuar el estudio propuesto.

Cuando aparecía desarrollo en tubos de agar (24hs. generalmente) se hacía la coloración del Gram, que servía además para informarnos de la pureza del cultivo. En caso de encontrarse un cultivo no puro se procedía a una nueva purificación pasando por agua de peptona y aislamiento en placas como anteriormente.

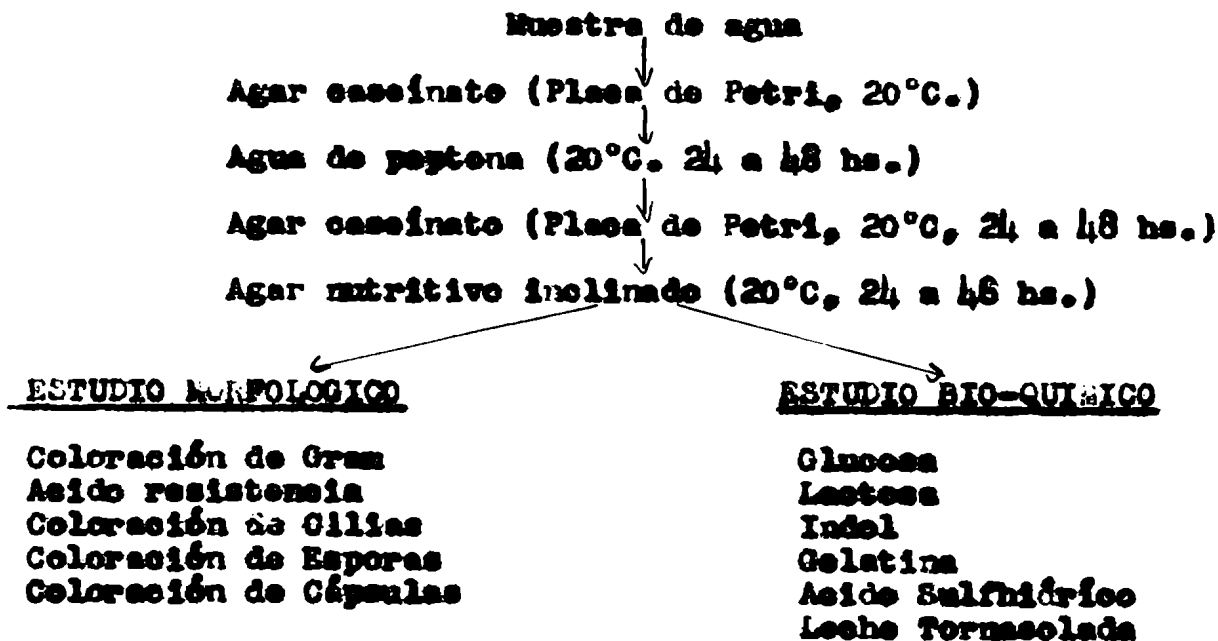
Las reacciones que se efectuaron en cada una de las cepas aisladas fueron las siguientes:

- a) Licuación de la gelatina
- b) Capacidad de reducir los nitratos a nitritos
- c) Formación de indol
- d) Producción de ácido sulfhídrico
- e) Acción fermentativa frente a la glucosa y lactosa
- f) Acción frente a la leche tornasolada

Se completó con el estudio morfológico mediante:

- a) Coloración de Gram
- b) Acido resistencia
- c) Ciliias
- d) Esporas
- e) Cápsulas

ESQUEMA DE LA TECNICA SEGUIDA



Se estudiaron en total 193 cultivos puros aislados de diez muestras de agua distintas.

////

ESTUDIO MORFOLOGICO

En todos los casos se trabajó en cultivos en agar nutritivo incubados a 20°C durante 24 hs.; con excepción de la coloración de esporas que se hizo sobre cultivos de una semana de edad.

Movilidad

Para este ensayo se prepararon suspensiones en agua estéril, observándose en gota pendiente; además se ensayó el crecimiento en agar blando (agar-casainato de sodio al 0,4 %). Cuando por alguno de los métodos indicados se comprobó movilidad se hicieron extendidos para la coloración de cilias.

Cilias

Se ensayaron para la tinción de cilias diversos métodos, a saber: Casares Gil, Zettnow y Gray.

En la mayoría de los casos se utilizó de preferencia el método de Gray modificado por Gern y en los casos de duda se empleó el de Zettnow.

La elección del método de tinción de cilias se hizo solo por razones personales, dado que se había adquirido más experiencia con el método de Gray.

En lo que se refiere al método de Zettnow se eligió para casos de duda, por ser un método que también se había ejecutado con seguridad y porque era más conveniente elegir para dilucidar una duda, un método distinto al seguido como rutina.

Coloración de Gram

Se siguió para este propósito la técnica de Kopeloff y Beerman.

Coloración de Esporas

Se estudiaron cultivos de por lo menos una semana de edad, siguiendo la técnica de Dörner.

Coloración de cápsulas

Para este ensayo se efectuaron cultivos en medios especiales, a saber, caldo glucosado. El agar suero no se usó por ser más apropiado para microorganismos parásitos.

La técnica seguida para la coloración, fue la de Gins adoptada por su sencillez y buenos resultados.

Acido resistencia

Se operó sobre cultivos de 24 hs. y la técnica fue la clásica de Ziehl Nielsen.

ESTUDIO BIOQUIMICO

Para el estudio bioquímico de las cepas aisladas, se han seleccionado un conjunto de reacciones que pongan de manifiesto las propiedades más características de este conjunto de bacterias. La conocida variabilidad fermentativa sobre los hidratos de carbono ha sido el motivo por el cual se ha reducido al mínimo esta clase de ensayos, prestando más atención a su actividad

**proteolítica e hidrolítica.**

### Producción de indol

Se adoptó la técnica de Bohme, modificada y para los casos de bacterias que parecían presentar piocianina; la técnica de Gussda.

### Producción de ácido sulfhídrico

Los métodos más indicados hace unos años indicaban la incorporación de acetato de plomo y cloruro férrico al cultivo. Recientemente Zobell y Fellman han demostrado la ventaja de usar tiras de papel embebidas en solución de acetato de plomo.

Se usó como medio de cultivo, el agua de peptona; probándose la eficacia del medio con la siembra de una cepa productora de sulfhídrico.

### Licuasión de la gelatina

Se debe diferenciar en este caso la verdadera acción proteolítica, de la licuasión lenta y que no se extiende más allá del punto de inoculación. Este último hecho es debido a la presencia de endo-enzimas, que son liberadas por las bacterias luego de su muerte; hecho muy diferente de la verdadera licuasión que es producida por enzimas que son segregadas por el organismo en su desarrollo.

### Reducción de nitratos

Se observó únicamente la producción de nitritos, usando para ello un medio de agar común que contenía 1% de nitrato de potasio; observando la presencia de nitritos a los cuatro días de incubación a 20°C.

### Acción sobre la leche

Se realizaron observaciones de fermentación, reducción del tornasol y peptonización, sobre los cultivos en leche tornasolada, diariamente durante 5 días.

### Hidrólisis de la caseína

Como complemento de la acción sobre la leche se anotó el comportamiento sobre la caseína en el medio de cultivo original (agar caseinato, Taylor). Se observó la presencia o ausencia de un halo blanco que bordea la colonia, índice de la acción proteolítica sobre la caseína.

### Fermentación de hidratos de carbono

Para la investigación fermentativa se emplearon dos azúcares solamente, a saber: glucosa y lactosa. Incorporados al agua de peptona en la proporción del 0,5 %; usando como indicador el rojo fenol. Se observó el cultivo diariamente y durante 15 días; anotando la presencia o ausencia de gas en la campanita de Durham y la reacción del medio.

IV - EXPERIENCIAS REALIZADAS

A continuación y en forma de planilla se exponen la totalidad de las experiencias realizadas.

Se han dividido en caracteres: morfológicos, tintoriales y bioquímicos y se ha empleado en ellos la siguiente nomenclatura.

- A - Acidifica
- Alc.- Alcaliniza
- AG - Acido y gas
- Am - Amarillo
- B - Blanco
- C - Coagula
- c - Espora central
- pe - Cilias peritricas
- po - Cilias polares
- p - Espora terminal
- R - Reduce
- Ro - Rosada
- \* Habo maripón.

Deps	Caracteres morfológicos				Caracteres tintoriales			Caracteres bioquímicos								
	Forma	Bilias Esp.	Cap.	Gram	A	R	Gelat	Gluc	Sac	Indol	Red. NO <sub>3</sub>	SH <sub>2</sub>	Leche	Casal	Motil	Catal
3	Bast. largos finos	-	-	-	-	-	+	Alc	Alc	-	+	-	-	+	+	B
4	Bast. muy larg.	-	-	-	-	-	-	Alc	A	-	-	-	-	+	+	B
6	Bac. raras	-	-	-	-	-	+	Alc	Alc	-	-	-	-	-	-	B
8	Bac. raras	±	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	-	B
9	Bast. raras (abund.)	+ pe	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	±	-	-	+	+	B
10	Ovot. raras	-	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	±	-	-	-	-	B
12	Ovot. raras	+ pe	-	-	-	-	+	Alc	Alc	-	-	-	± Alc	-	+	Am.
13	Ovot. raras	+ pe	-	-	-	-	+	Alc	Alc	-	-	-	± Alc	-	+	Am.
14	Bast. medios	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	± R	-	+	B
17	Bast. medios	± R	-	-	-	-	+	-	-	-	±	-	± R	-	+	B
18	Bast. medios	± R	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	± R	-	+	B
19	Bast. largos	±	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	B
20	Bast. muy larg.	-	-	-	-	-	+	A	A	-	-	-	-	+	+	B
21	Bast. medios, finos	+ pe	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	+	B
22	Bast. medios, finos	± pe	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	+	-	R	-	+	B
23	Bast. medios, finos	+ pe	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	+	-	R	-	+	B
25	Bast. medios, finos	+ pe	-	-	-	-	-	A.G.	±	-	±	-	Alc	+	+	B
26	Bast. medios	±	-	-	-	-	+	±	±	+	+	-	-	+	+	B



Cepa	Caracteres morfológicos				Caracteres tintoriales				Caracteres bioquímicos							
	Forma	Cilias	Esp.	Cap.	Gram	A R	Gelat	Gluc.	Lact	Indól	Red. de NGS	SH <sub>2</sub>	Leche	Casal	Motil	Color
27	Bact. medios	±	-	-	-	-	+	±	±	-	+	-	-	+	+	B
28	Cocos	-	-	-	+	-	-	A	Alc	-	+	-	Alc	+	-	R <sub>2</sub>
30	Cocos	-	-	-	+	-	-	A	Alc	-	+	-	Alc	+	-	R <sub>2</sub>
31	Varinas	-	-	-	+	-	+	Alc	Alc	-	-	-	-	-	-	Am
32	Bact. medios, fino	±	-	-	+	-	-	Alc	Alc	-	-	-	R <sub>0</sub>	-	+	i
36	Varinas	-	-	-	+	-	+	Alc	Alc	-	-	-	-	-	-	Am
40	Bact. medios, fino	+ pe	-	-	-	-	+	Alc	Alc	-	-	-	-	-	+	Am
42	Bact. medios	+ pe	-	-	-	-	+	A	A	+	+	-	-	+	+	B
43	Bact. otros finos	+ pe	-	-	-	-	+	A	Alc	-	-	-	-	+	+	B
44	Bact. cortos	-	± p	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	B
46	Bact. medios	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	B
47	Bact. cortos, finos	+ pe	-	-	-	-	+	A.G.	A.G.	-	+	-	C	-	+	B
48	Bact. otros finos (cadena)	+ pe	-	-	-	-	-	A	Alc	-	-	-	A	+	+	B
49	Bact. medios finos	-	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	+	-	C	-	+	B
51	Cocotacilos	-	-	-	-	-	+	Alc	Alc	-	+	-	R	-	-	Am
52	Bact. medios	+ pe	-	-	-	-	+	A	A	+	-	-	C-R	+	+	B
54	Cocotacilos	± pe	-	-	-	-	+	Alc	Alc	-	-	-	Alc	+	+	B
56	Cocotacilos	±	-	-	-	-	+	Alc	Alc	-	-	-	-	+	+	B
58	Varinas	-	-	-	+	-	+	Alc	Alc	-	-	-	-	-	-	Am.

Ejemplar	Caracteres morfológicos			Caracteres tintoriales			Caracteres bioquímicos								
	Forma	Oillos Esp.	Cap.	Gram	A R	Gelat	Gluc.	Lact	Inool	Indol	SH <sub>2</sub>	Leche	Casei	Movil	Color
58	Bast. largos y filam.	+ pe	-	-	-	+	A.S	Alc	-	+	-	Alc	+	+	Am.
60	Bast. medios	+ be	-	-	-	+	A	Alc	+	+	-	-	-	+	B.
61	Bast. medios, finos	± pe	-	-	-	+	±	Alc	-	-	-	C	+	+	B.
62	Cocotracilos	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	+	-	-	-	±	B.
63	Bast. medios	-	-	-	-	-	A.G.	A.G.	-	±	-	A	-	±	B.
64	Esarinas	-	-	-	-	+	Alc	Alc	-	-	-	-	-	-	Am.
65	Cocotracilos	+ pe	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	+	B.
66	Cocotracilos	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	+	-	-	-	-	B.
67	Cocotracilos	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	+	-	-	-	+	B.
68	Bast. medios, finos	± pe	-	-	-	-	Alc	Alc	-	+	-	R <sub>6</sub>	-	+	B.
69	Cocotracilos	± pe	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Alc	-	+	B.
70	Cocotracilos	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	Alc	+	+	Am.
71	Bast. entos, medios	± pe	-	-	-	+	-	-	-	-	-	C-R	-	+	B.
72	Bast. entos, medios	+ pe	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	+	B.
73	Cocos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Alc	-	-	Re.
74	Cocot. muy peg.	-	-	-	-	-	A	Alc	-	-	-	-	-	-	B.
75	Cocotracilos	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	Alc	-	+	B.
76	Cocotracilos	+ pe	-	-	-	+	-	Alc	-	-	-	R <sub>6</sub>	+	+	B.
77	Cocotracilos	± pe	-	-	-	+	-	-	-	-	-	R <sub>6</sub>	-	+	B.
78	Cocotracilos	± pe	-	-	-	+	-	-	-	-	+	R <sub>6</sub>	-	+	B.

Cepa	Caracteres morfológicos					Caracteres tintoriales					Caracteres bioquímicos						
	Forma	Cilias	Esp.	Vap.	Gran.	A	R	Velat	Gluc	Lact	Indol	Red de M <sub>03</sub>	SH <sub>2</sub>	Leche	Casei	Motil	Color
80	Cocobacilos	-	-	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	Alc	+	+	B
81	Cocobacilos	+ pe	-	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	Alc	+	+	B
82	Cocos	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	A	+	-	B
83	Cocos	-	-	-	+	-	-	+	A	±	-	-	-	Alc	-	-	Am
84	Cocos	-	-	-	+	-	-	+	A	±	-	-	-	Alc	-	-	Am
85	Cocos	-	-	-	+	-	-	+	Alc	Alc	-	-	-	Alc	-	-	Am
86	Varinas	-	-	-	+	-	-	+	Alc	Alc	-	+	-	-	+	-	B
87	Bact. ovali, cortos	-	-	-	+	-	-	+	A	±	+	+	-	-	-	-	B
88	Cocobacilos	-	-	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	+	B
89	Bact. ovoides	±	-	-	-	-	-	-	A	A	+	+	±	C-R	+	-	B
90	Cocos	-	-	-	+	-	-	+	A	A	-	-	-	Alc	-	-	Am
92	Bact. cortos, finos	± pe	-	-	-	-	-	+	A	Alc	-	-	-	E	+	+	B
93	Bact. cortos, finos	± pe	-	-	-	-	-	+	A	Alc	-	-	-	-	-	+	B
97	Bact. cortos	-	-	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	-	Rc
98	Cocobacilos	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	Alc	+	+	Am
99	Bact. cortos, finos	±	-	-	-	-	-	-	A	Alc	-	-	-	-	-	+	B
101	Bact. cortos	-	-	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	+	Rc
107	Bact. largos	+ pe	-	-	-	-	-	-	-	Alc	-	-	-	-	-	+	B
108	Bact. largos	+ pe	-	-	-	-	-	-	-	Alc	-	-	-	± Alc	+	+	B

Cepa	Caracteres morfológicos					Caracteres tintoriales					Caracteres bioquímicos.					
	Forma	Cilias	Esp.	Cap.	Gran	A R	Gelat	Gluc	Lact	Indol	Red de NO <sub>2</sub>	SH <sub>2</sub>	Leche	Casal	Movil	Color
109	Bast. enter	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	Re
110	Bast. enter	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Re.
111	Cocotricios	+ pe	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	+	-	Alc	+	+	B
112	Bast. medios	+ pe	-	-	-	-	-	A.G.	A	-	-	-	Alc	-	+	Re
113	Cocotricios	+ pe	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	Alc	+	+	Am
114	Cocotricios	+ pe	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	B
115	Bast. medios	+ pe	-	-	-	-	+	A	A	±	+	+	-	+	+	B
116	Cocotricios	-	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	± Alc	-	-	B
117	Cocos	-	-	-	-	-	+	A	±	-	+	-	A	+	-	B
118	Cocotricios	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B
119	Cocot. muy bog.	+ pe	+	-	-	-	+	±	Alc	-	-	-	E-R <sub>6</sub>	+	-	Over
120	Bast. largos	+ pe	+	-	-	-	+	-	Alc	-	±	-	-	*	+	B
121	Bast. medios	±	-	-	-	-	-	A	A	+	+	+	E-R <sub>6</sub>	+	+	B
122	Bast. largos, fino	-	-	-	-	-	+	R <sub>6</sub>	R <sub>6</sub>	-	-	-	R <sub>6</sub>	-	-	B
123	Bast. medios	-	-	-	-	-	-	A	A	+	+	±	E-R <sub>6</sub>	+	+	B
124	Bast. medios	-	-	-	-	-	-	A	±	+	±	±	R <sub>6</sub>	+	+	B
125	Cocos	-	-	-	-	-	+	-	Alc	-	-	-	Alc	-	-	B
127	Cocotricios	+	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	-	-	+	B

Caracteres tintoreales

Caracteres bioquímicos.

Caracteres morfológicos

Cepa	Forma	Cilias Esp. Cap.	Gram	A R	Gelat	Gluc.	Lact. Indbl.	Red de Noz	Sig	Leche	Casei	Movil	Color
128	Zarcinas	-	+	-	+	Alc	-	-	-	-	-	-	Amo
129	Bact. largos y cortos	+ pe	-	-	-	A	-	-	-	± Alc	-	+	B
130	Cocci. muy peg.	-	-	-	-	Alc	-	-	-	Alc	-	-	B
131	Cocci	-	-	-	-	±	-	-	-	Alc	-	-	pe
132	Cocci. ovales	-	-	-	-	Alc	-	-	-	-	-	-	B
134	Bact. medios	±	-	-	+	A	±	+	+	-	+	+	B
135	Bact. medios	+ pe	-	-	+	A	±	+	+	Re	+	+	B
136	Bact. largos y filam.	+ pe	-	-	+	A G	-	+	+	Alc	+	+	B
137	Bact. medios	+	-	-	+	A	+	+	+	E-R	+	+	B
138	Bact. medios	-	-	-	+	A	-	+	±	E-R	-	-	B
141	Bact. medios	-	-	-	+	A	-	+	-	E-R	-	-	B
142	Bact. muy cortos	-	-	-	+	A	+	+	-	E-R	+	+	B
143	Bact. medios	+	-	-	+	A	+	+	+	E-R	+	+	B
149	Bact. muy cortos	-	-	-	+	A	+	+	+	E-R	+	+	B
150	Cocci. bacilos	+ pe	-	-	+	-	-	-	-	Alc	+	+	B
151	Bact. muy cortos	-	-	-	+	A	+	+	-	E-R	+	+	B
152	Cocci. muy peg.	+ pe	-	-	+	A	±	+	±	E-R	+	+	Don
153	Bact. largos y filam.	+ pe	-	-	+	A G	-	+	+	Alc	+	+	B

Cepa	Caracteres morfológicos			Caracteres tintoriales			Caracteres bioquímicos			E2	Leche	Casei	Movil	Color
	Forma	Cilios Esp.	Cup.	Gran	A R	Gelat	Gluc	Lact	Indol					
156	Boat. largos filam.	+ pe	-	-	-	+	A. G.	Alc	-	+	+	+	+	B
157	Boat. largos filam.	+ ae	-	-	-	+	A. G.	Alc	+	+	+	+	+	B
158	Coarctados	±	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	+	B
159	Boat. largos filam.	+ pe + p	-	+	-	+	Alc	Alc	-	+	+	+	+	B
160	Boat. medios	+ ae	-	-	-	+	A	A	+	+	+	+	+	B
163	Locos	-	-	+	-	+	A	A	-	+	-	-	-	B
164	Boat. largos	+ pe + p	-	+	-	-	±	Alc	-	+	-	-	+	B
166	Boat. largos	+ pe + p	-	+	-	-	±	Alc	-	+	-	-	+	B
167	Boat. intr. filam.	-	-	+	-	+	A	-	-	-	-	-	-	B
168	Locos	-	-	+	-	+	±	Alc	-	-	-	-	-	B
169	Coarctados	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	B
171	Boat. largos	+ pe + p	-	+	-	+	-	Alc	-	+	+	*	+	B
172	Coarct. muy peg.	-	-	-	-	-	-	Alc	-	-	-	-	±	B
173	Coarctados	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	B
174	Ferinas	-	-	-	+	+	Alc	Alc	-	-	-	+	-	B
175	Boat. largos	+ pe + p	-	+	-	+	-	Alc	-	+	+	*	+	B
176	Ferinas	-	-	-	+	+	Alc	Alc	-	-	-	+	-	B
177	Boat. muy peg.	-	-	-	-	-	Alc	A	-	-	-	-	+	B

Caracteres morfológicos

Caracteres bioquímicos.

Cepa	Forma	Cilias Esp.	Cap.	Gram	A R	Gelat	Gluc.	Lact Indol	Red H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SH <sub>2</sub>	Leche Casei	Movil	Color
179	Coax	-	-	+	-	+	A	±	-	-	A	+	B
180	Bast. largos	+ pe	-	+	-	+	-	Alc	-	+	B	+	B
181	Bast. largos	+ pe	-	+	-	+	-	Alc	-	+	E	+	B
182	Coax	-	-	+	-	+	A	±	-	-	A	-	B
183	Coax. muy peg.	+ pe	-	-	-	+	A	±	-	+	C-R	+	Verde
184	Bast. cortos	+ pe	-	-	-	+	Alc	Alc	+	-	-	+	B
185	Coax	-	-	+	-	+	A	Alc	-	-	Alc	-	Ror
186	Coax	-	-	+	-	+	A	±	-	-	Alc	-	Am
188	Coax	-	-	+	-	+	A	Alc	-	-	Alc	-	Ror
189	Bast. largos	+ pe	-	+	-	+	-	Alc	-	+	R <sub>0</sub>	+	B
190	Coax	-	-	+	-	+	A	Alc	-	-	Alc	-	Ror
192	Coax	-	-	+	-	+	±	±	-	-	A	-	B
193	Coax. muy peg.	+ pe	-	-	-	+	±	±	-	-	-	+	B
195	Bast. cortos finos	+ pe	-	+	-	+	Alc	Alc	-	-	-	+	B
196	Coax. muy peg.	+ pe	-	-	-	+	A	±	-	+	C-R	+	Verde
197	Coax. cortos	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	Alc	-	B
198	Coax. muy peg.	+ pe	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	+	Am
200	Coax	-	-	+	-	-	A	A	-	-	-	-	B

Cepa	Caracteres morfológicos				Caracteres tintoriales			Caracteres bioquímicos.					
	Forma	Cilias	Esporas Cap	Gram	A R	Gelat.	Óxido Lact.	Indol	Red. N <sup>o</sup>	SH <sub>2</sub>	Leche Case.	Novil	CoDMR
201	Cocci: muy peg.	-	-	-	-	-	Alc	-	-	-	R <sub>g</sub>	-	B
202	Bast. cortos, filam.	-	-	+	-	+	Alc	-	-	+	R <sub>g</sub>	-	B
203	Bast. cortos, filam.	-	-	+	-	+	Alc	-	-	±	R <sub>g</sub>	-	B
204	Cocci: muy peg.	-	-	-	-	-	Alc	-	-	-	-	-	B
205	Cocci: muy peg.	-	-	-	-	-	Alc	-	-	-	-	-	B
207	Cocci: muy peg.	-	-	-	-	-	Alc	-	-	-	-	-	B
209	Cocci: muy peg. + pe	-	-	-	-	-	Alc	-	+	-	-	+	B
211	Bast. medios, filam.	-	-	+	-	+	A	-	+	+	-	-	B
213	Cocci: muy peg. + pe	-	-	-	-	-	Alc	-	-	-	-	+	B
215	Cocci: muy peg.	-	-	-	-	-	Alc	-	-	-	-	-	B
216	Cocci	-	-	+	-	+	A	-	-	-	Alc	-	B
217	Bast. largos	± pe	+	+	-	+	Alc	-	+	-	-	+	B
218	Bast. largos	± pe	+	+	-	+	Alc	-	+	-	-	+	B
240	Bast. cortos, medios	± pe	+	+	-	-	-	-	-	-	E-R	+	B
242	Bast. cortos, medios	± pe	+	+	-	-	-	-	-	-	R <sub>g</sub>	+	B
243	Bast. cortos, medios	± pe	+	+	-	-	Alc	-	-	-	E-R	+	B
244	Bast. cortos, medios	± pe	+	+	-	-	Alc	-	-	-	-	+	B
246	Bast. cortos	-	-	+	-	+	A	±	+	±	-	+	B
247	Cocci bacilos	-	-	-	-	+	±	-	+	±	E-R	-	B



Caracteres morfológicos				Caracteres tintoriales				Caracteres bioquímicos.							
Cepe	Forma	Ollas Esp.	Cap.	Gram	A R	Gelat	Gluc.	Lact.	Indol	Red. de NO <sub>2</sub>	SH <sub>2</sub>	Leche	Casaí	Movil	
248	Bast. medios	+ pe	-	-	-	+	A	A	±	+	+	-	+	+	B
249	Bast. cortos, medios	+ pe + c	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	B
250	Cocostacilos	+	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	+	B
251	Bast. cortos, medios	+ pe + c	-	+	-	-	-	-	-	-	-	C	-	+	B
252	Bast. medios, finos	-	-	-	-	+	A	Alc	-	-	-	C	+	-	B
253	Bast. largos	+ pe + p	-	+	-	-	-	Alc	-	+	-	Alc	-	+	B
254	Bast. largos	+ pe + p	-	+	-	-	Alc	Alc	-	+	-	Alc	-	+	B
255	Bast. cortos	± pe	-	-	-	+	A	A	-	+	-	C-R	-	+	B
256	Cocost. muy peg.	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	-	B
257	Bast. medios	+ pe + e	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B
258	Bast. largos	+ pe + p	-	+	-	-	Alc	-	-	+	-	C	-	+	B
259	Bast. medios	+ pe + e	-	+	-	-	Alc	Alc	-	+	-	Alc	-	+	B
260	Bast. medios	+ pe + e	-	+	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	+	B
261	Bast. medios	± pe + e	-	+	-	-	AG	Alc	-	-	-	Alc	-	+	R <sub>5</sub>
262	Cocostacilos	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	+	B
263	Bast. largos, filam.	+ pe + p	-	+	-	+	A	A	-	+	-	C	+	+	B
264	Bast. cortos	-	-	-	-	+	A	A	-	+	-	C-R	-	+	B

Cepa	Caracteres morfológicos				Caracteres tintoriales				Caracteres bioquímicos						
	Forma	Cilias	Esp.	Cap.	Gram	A R	Gelat.	Gluc. Lact.	Indol	Red de NO <sub>3</sub>	S <sub>2</sub> H	Leche	Casei	Móvil	Color
265	Bast. cortos, largos	+ pe	+ p	-	+	-	+	A	A	-	+	e	+	+	13
266	Bast. largos	+ pe	+ p	-	+	-	-	± Alc	Alc	-	+	Alc	-	+	16
267	Esocis	-	-	-	+	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	-	13
268	Bast. medios	-	-	-	-	-	+	A	Alc	-	-	e-R	-	-	18
269	Bast. muy pqs	+ pe	-	-	-	-	-	A	Alc	-	±	-	-	+	18
270	Bast. cortos	±	-	-	-	-	-	Alc	Alc	-	-	-	-	+	18
271	v Bast. largos, finos	+ pa	-	-	-	-	+	A.G.	Alc.	+	+	1/2 e	+	+	18

V - AGRUPACION DE LAS BACTERIAS ESTUDIADAS

De las 207 cepas aisladas de las muestras de aguas sembradas según la técnica descrita, fué posible estudiar 193 cepas. Determinadas sus características según los ensayos mencionados, se han distribuido en XI grupos diferenciados por sus características morfológicas.

GRUPO I:

Constituido por dos cepas. 46,63

Bastones finos móviles con cilias peritricas, Gram negativos, no esporulados ni capsulados.

No licúan la gelatina dentro de los 15 días, fermentan la glucosa y la lactosa con producción de ácido y gas, reducen los nitratos formando nitritos. La producción de indol y sulfhídrico es negativa.

Acidifican la leche y no disuelven la caseína.

Los organismos de este grupo se incluyen dentro del género Escherichia. Pueden ser Coli II o coli intermedia I. También puede tratarse de una cepa relacionada con Aerobacter aerogenes.

Se realizaron las reacciones de rojo de metilo y crecimiento en el medio de Koser. Lo que dió como resultados que una cepa produjera reacción de rojo de metilo positiva y la otra negativa; dando la primera y la segunda crecimiento bueno en el medio de Koser.

Se trata por lo tanto de dos especies:

Aerobacter aerogenes y Escherichia coli intermedia tipo I.

GRUPO II:

Integrado por tres cepas. 25,112,261.

Bastones medios, móviles con cilias peritricas, Gram negativos no esporulados ni capsulados.

No licúan la gelatina, fermentan únicamente la glucosa con producción de ácido y gas en la lactosa dan reacción ácida. No reducen los nitratos (aunque hay una cepa que lo hace debilmente). No producen indol ni sulfhídrico. La leche es alcalinizada.

Son bacterias coliformes aberrantes. Rembaum cita bacterias que no fermentan lactosa e que la fermentan lentamente y Sandifer sitúa a esos fermentadores lentos entre los grupo coli y Salmonella.

Entre los autores que también se han ocupado de estas bacterias no debemos olvidar a Stuart.

Este grupo es posiblemente una variedad del anterior.

GRUPO III:

Constituido por seis cepas. 59,136,156,271,153.

Bastones largos y algunos filamentos, móviles con abundantes cilias peritricas, Gram negativos, no esporulados ni capsulados.

Una de las cepas dá colonias amarillas y las restantes blancas. Licúan la gelatina, producen ácido y gas de la glucosa y alcalinizan la lactosa. Son reductores de los nitratos y alcalinizantes de la leche. La caseína es digerida. Solo una cepa es productora de indol y no de sulfhídrico; de las restantes no indolígenas cuatro son productoras de sulfhídrico.

Relacionadas con el género Proteus y posiblemente con las siguientes especies:

Proteus vulgaris. De ligera producción de indol.

Proteus mirabilis. No productor de indol.

Proteus americanus. Colonias amarillas. No productor de indol.

#### GRUPO IV:

Bastones no eremógenos y no fermentadores de azúcares.

Integrado por 91 cepas: 3, 4, 6, 8, 9, 10, 19, 20, 21, 22, 23, 26, 27, 32, 42, 43, 47, 48, 49, 52, 54, 56, 60, 61, 62, 66, 67, 68, 69, 74, 76, 77, 78, 80, 81, 87, 88, 89, 92, 93, 111, 114, 115, 116, 118, 121, 122, 123, 124, 127, 129, 130, 132, 134, 135, 137, 138, 141, 142, 143, 149, 150, 151, 158, 160, 169, 172, 173, 177, 184, 193, 197, 201, 204, 205, 207, 208, 213, 215, 246, 247, 248, 250, 252, 255, 256, 262, 264, 268, 269, 270.

Cocobaciles, bastones cortos y medios de soma grueso e fino, algunas cepas se agrupan en cadenas, otras presentan en su interior pequeños corpúsculos. Móviles e n6, los primeros con cilias peritricas. Gram negativos, no esporulados ni capsulados.

Licuentes e n6 de la gelatina de acci6n variada sobre los hidratos de carbono, generalmente la glucosa y lactosa acidificadas e alcalinizadas. Reductores e n6 de los nitratos, algunas cepas son productoras de indol e sulfhídrico.

De poca acci6n sobre la leche, las cepas que la atacan la alcalinizan y de las que no lo hacen algunas reducen el tornasol.

#### CEPAS MOVILES (62 cepas)

Gelatina licuada (34 cepas).

Glucosa y lactosa acidificadas. (19 cepas)

Bastones cortos y largos. Dos cepas presentan corpúsculos interiores. Reductores de nitratos con excepci6n de una cepa, productores de indol la mayoria, aunque algunas cepas lo hacen en forma débil. Con tres excepciones no productores de sulfhídrico.

La leche es coagulada y reducido el tornasol por parte de 10 cepas, reducido el tornasol por 2 y no alterada por las restantes. Las cepas de este grupo se hallan posiblemente relacionadas con las siguientes especies:

Achromobacter nitrificans. No altera la leche.

Achromobacter denitrificans. No altera la leche.

Achromobacter liquefaciens y Achromobacter litoralis. No reductores de nitratos y no alteran la leche.

Achromobacter lophagus. Reductor de los nitratos y acidificante de la glucosa.

Glucosa acidificada y lactosa alcalinizada. (7 cepas)

Bastones cortos y medios, delgados no reductores de nitratos, ni productores de indol o sulfhídrico, salvo una cepa que produce al primero.

La leche es coagulada por cuatro cepas y no es alterada por las restantes. La caseina es digerida por cinco cepas.

Incluiremos aqui las siguientes especies:

Achromobacter liquefaciens. No altera la leche.

Achromobacter litoralis. No altera la leche.

Citaremos adem6s en este grupo al:

Flavobacterium doverans, que puede estar relacionado por sus ve-

riedades no productoras de pigmento amarillo.  
Achromobacter iophagum. Nitratos reducidos y glucosa acidificada.

Glucosa y lactosa no alteradas. (6 cepas)

Cocobacilos gruesos y bastones medios. Una cepa reductora de los nitratos, ninguna productora de indol y solo una productora de sulfhídrico. La leche es alcalinizada por tres cepas, coagulada y reducido el tornasol por una, solo reducido el tornasol por otra y no alterada por las restantes dos cepas. La caseína solo es digerida por una cepa.

Possiblemente relacionadas con las siguientes especies:

Achromobacter liquefaciens.

Achromobacter litoreale.

Glucosa y lactosa alcalinizadas. (1 cepa)

Bastones largos delgados, móviles sin cilias identificadas. Reducen los nitratos y no son productores de indol o sulfhídrico. La leche no es alterada y la caseína digerida.

Sin clasificación segura.

Incluimos aquí una cepa que está constituida por bastones largos y que reduce los colorantes indicadores de la glucosa y lactosa.

No es productora de indol o sulfhídrico. La leche es solo alterada por la reducción del tornasol y la caseína no es digerida.

Possiblemente relacionada con:

Achromobacter formosum. No reductor de nitratos y reductor del tornasol de la leche.

Gelatina no liouada. (28 cepas)

Glucosa y lactosa alcalinizadas. (20 cepas)

Cocobacilos gruesos, bastones cortos y delgados en cadenas pequeñas, presentando algunos de ellos corpúsculos interiores. Productores o más de nitritos a partir de los nitratos y no productores de indol o sulfhídrico.

La leche no es alterada en la mayoría de los casos y en los menos alcalinizada o solo reducido el tornasol. La caseína es digerida por tres cepas.

Relacionadas a estas cepas citaremos:

Achromobacter pestifer. No reductor de los nitratos, suele presentarse en cadenas pequeñas.

Achromobacter lipidis. (Aquí sería necesario identificarlo previo estudio de las propiedades lipolíticas de las cepas).

Achromobacter guttatum. No reductor de los nitratos.

Glucosa no alterada, lactosa alcalinizada (3 cepas)

Cocobacilos muy pequeños. Una cepa reductora de los nitratos, ninguna productora de indol o sulfhídrico.

La leche y la caseína no son atacadas.

Cepas tal vez identificadas con:

Achromobacter guttatum.

Glucosa alcalinizada, lactosa acidificada. (3 cepas)

Cocobacilos muy pequeños, no reductores de nitratos ni productores

de indol e sulfhídrico.

La leche no es alterada por dos cepas y reducido el tornasel por la tercera. En ningún caso se observó digestión de caseína.  
Sin clasificación segura.

**Glucosa acidificada, lactosa alcalinizada. (2 cepas)**

Una cepa integrada por bastones largos y cortos y la otra por coccobacilos pequeños. No reductores de nitratos, no productores de indol e sulfhídrico y no alterantes de la leche y caseína.

Cepas posiblemente relacionadas con:

Achromobacter guttatus. No reductor de nitratos, no productor de indol y que no altera la leche.

**CEPAS INMOVILES (29 cepas)**

**Licuentes de la gelatina.(12 cepas)**

**Glucosa y lactosa acidificadas. (5 cepas)**

Bastones cortos gruesos y coccobacilos pequeños. Solo una cepa no reductora de los nitratos y productora de indol. Las restantes no producen indol y tres producen sulfhídrico mientras una lo hace debilmente. La leche no es alterada por dos cepas y coagulada y reducido el tornasel por las restantes. La caseína es digerida por todas las cepas excepto por una.

Sin clasificación segura.

**Glucosa acidificada y lactosa alcalinizada.(3 cepas)**

Bastones medios, solo una cepa reduce los nitratos, no son productores de indol y el sulfhídrico es producido por una cepa en forma débil. La leche es coagulada y reducido el tornasel y la caseína no es digerida.

Sin clasificación segura.

**Glucosa y lactosa alcalinizadas.(2 cepas)**

Coccobacilos cortos, no reductores de los nitratos ni productores de indol e sulfhídrico. La leche no es alterada y la caseína no es digerida. Posiblemente relacionadas con:

Achromobacter butyrii. No alterante de la leche.

**Glucosa y lactosa no alteradas.(2 cepas)**

Integrado por coccobacilos no reductores de los nitratos ni productores de indol e sulfhídrico.

Una cepa coagula la leche y reduce el tornasel, mientras que la otra la alcaliniza. La caseína no es digerida.

Citaremos:

Achromobacter heali. Alcalinizante de la leche.

**Gelatina no licuada. (17 cepas)**

**Glucosa y lactosa alcalinizadas. (10 cepas)**

Cocobacilos, algunos muy pequeños y bastones finos. Solo cuatro cepas reductoras de los nitratos, haciéndolo una de ellas en forma débil; no productoras de indol o sulfhídrico y la leche alcalinizada por 2 cepas y reducido solamente el ternasol por otra, las restantes no la alteran. Una cepa digiere la caseína.

Cepas que posiblemente han perdido sus elementos de locomoción, no se ha encontrado para ellas una clasificación segura.

Se puede relacionar la cepa que alcaliniza la leche y no es reductora de nitratos con:

Achromobacter candidans.

Glucosa no alterada, lactosa alcalinizada. ( 7 cepas)

Integrado por cocobacilos muy pequeños, no reductores de nitratos ni productores de indol o sulfhídrico.

La leche no es alterada y una cepa reduce el ternasol como único cambio; la caseína no es digerida por ninguna cepa.

Sin clasificación segura.

## GRUPO VI:

Bastones cromógenos.

Integrado por 16 cepas: 12, 13, 40, 51, 70, 97, 98, 101, 109, 110, 113, 119, 152, 183, 196, 198.

Cocobacilos y bastones cortos, los primeros en general de soma grueso; existen además en este grupo cocobacilos muy pequeños. Móviles o no, los primeros con cilias peritricas, Gram negativos, no esporulados ni capsulados.

Licuentes o no de la gelatina; de poca acción sobre los hidratos de carbono estudiados (glucosa y lactosa). A excepción de una cepa no reducen los nitratos. No son productores de indol o sulfhídrico salvo tres cepas que producen al último.

PRODUCTORAS DE COLONIAS AMARILLAS

MOVILES. (8 cepas)

Gelatina licuada. (7cepas)

Das cepas alcalinizan la glucosa y lactosa, dos acidifican el primer hidrato de carbono aunque débilmente, acidificando una a la lactosa y no alterándola la otra. Las restantes cepas no alteran los hidratos de carbono estudiados.

Los nitratos no son reducidos y la leche no es alterada por una cepa, alcalinizada por cinco y coagulada al tiempo que reduce el ternasol por una.

La caseína es digerida por cuatro cepas.

Citaremos en este grupo las siguientes especies:

Flavobacterium harrisonii. Alcalinizante de la leche.

Flavobacterium doverans. No altera la leche

Flavobacterium marinum. Acidifica débilmente la glucosa y alcaliniza la leche.

Gelatina no licuada. (1 cepa)

Cocobacilos muy pequeños que no alteran la glucosa y lactosa. La leche y la caseína no son atacadas.

Relacionada posiblemente con:  
Flavobacterium superficiale.

IMMOVILES. (4 cepas)

Cocobacilos de soma grueso y cocobacilos pequeños; licuantes de la gelatina.

No alteran la glucosa y lactosa dos cepas; las otras dos las acidifican aunque debilmente.

Das cepas coagulan la leche y reducen el tornasol y de las restantes, una la alcaliniza y la otra no la altera. Tres cepas digieren la caseina.

Relacionaremos con las siguientes especies:

Flavobacterium halvolum. Alcaliniza la leche.

Flavobacterium brunum. No altera la leche.

Flavobacterium ovale. Reduce al tornasol.

PRODUCTORES DE COLONIAS ROSADAS. (4 cepas)

Bastones cortos inmóviles; solo dos cepas producen cambio en la glucosa y lactosa. Una alcaliniza a ambas y la otra no altera la glucosa y alcaliniza la lactosa.

Una cepa es reductora de los nitratos y ninguna altera la leche y la caseina.

Citaremos:

Bacterium latericus. Reductor de nitratos y alcalinizante de la leche.

Chromobacterium rubricum. No reductor de nitratos y alcalinizante de la leche.

GRUPO VI:

Bastones Gram positivos. No esporulados.

Seis cepas; 99,167,195,202,

203,211.

Bastones cortos, delgados, medios y filamentos. Gram positivos, no esporulados, ni capsulados. Solo dos cepas móviles con cilias peritricas.

Solo dos cepas no son licuantes de la gelatina. Una cepa alcaliniza la glucosa y la lactosa, mientras que las restantes acidifican la glucosa alcalinizando la lactosa tres de ellas y no alterándola la otra.

Los nitratos son reducidos por tres cepas y otras tres son productoras de sulfhídrico y ninguna lo es de indol.

La leche tornasolada no es alterada por dos cepas, reducido el tornasol por tres cepas como único cambio y coagulada y reducido el tornasol por la restante. La caseina es digerida por tres cepas. Sin clasificación segura, posiblemente relacionadas con variedades del grupo del Bacterium nigrum.

GRUPO VII:

Esporógenos.

Constituido por 30 cepas: 71,72,108,107,120,164,166,171,175,180,181,189,217,218,240,241,243,244,249,251,253,254,258,263,265,266,257,259,260,159.

Bastones cortos medios y largos, algunas cepas con formas filamentosas. Gram positivos, móviles con cilias peritricas, no capsula-



dos.

Esperulados polares o centrales (plectridios o en forma de electroidios). Licuantes o no de la gelatina, de poca acción sobre la glucosa y lactosa; aunque hay algunas cepas que acidifican la glucosa; la lactosa es alcalinizada en casi todas las cepas. Reducen o no los nitratos, no producen indol y el sulfhídrico es producido en algunos casos.

La leche no es alterada, coagulada, reduce el tornasol o alcalinizada y la caseína es digerida en la mayoría de los casos.

ESPORULADOS TERMINALES. ( 18 cepas)

Licuantes de la gelatina, (10 cepas)

Acidificantes de la glucosa y lactosa. (2 cepas)

Bastones largos y cortos, existiendo formas filamentosas. Producen nitritos de los nitratos y no indol o sulfhídrico.

La leche es coagulada y la caseína digerida.

Cepas posiblemente relacionadas con las siguientes especies:

Bacillus alpinus.

Bacillus segetalis.

Bacillus reifen.

No alteran la glucosa y alcalinizan la lactosa. (8 cepas)

Bastones largos con esporangio en forma de plectridio. Solo tres cepas reductoras de los nitratos y cinco productoras de sulfhídrico. La leche es coagulada por una cepa y reduce el tornasol solamente por dos cepas. Las restantes no la alteran. La caseína es digerida y las colonias se rodean de un halo marrón.

Como especies posiblemente semejantes:

Bacillus agrif. No reductor de los nitratos y reductor del tornasol de la leche.

Bacillus rugulosus. Productor de sulfhídrico y reductor del tornasol.

Bacillus finus. Productor de sulfhídrico y no reductor de los nitratos.

Bacillus alpinus. Igual que el anterior.

Bacillus segetalis. De débil reducción de los nitratos.

Glucosa y lactosa alcalinizadas. (1 cepa)

Bastones largos finos, reductores de los nitratos, no productores de indol y productores de sulfhídrico. La leche es solo alterada en la reducción del tornasol y la caseína no digerida.

Posiblemente identificado con:

Bacillus formosus.

No licuantes de la gelatina. (8 cepas)

Bastones largos y gruesos, reductores de los nitratos y a excepción de una cepa no productores de sulfhídrico.

La leche es alcalinizada y la caseína no digerida

Las relacionaremos con las siguientes especies:

Bacillus montanus.

Bacillus granularis.

Que son reductores de nitratos y sulfhídrico positivos.

De las especies productoras de nitritos y sulfhídrico negativas citaremos las siguientes:

Bacillus tardus.

Bacillus pseudotitanicus.

#### ESPORULADOS CENTRALES, (11 cepas)

Bastones cortos y medios que no producen cambio en la glucosa y lactosa, salvo dos cepas que las alcalinizan. No reductores de los nitratos ni productores de indol o sulfhídrico.

Tres cepas coagulan la leche y reducen el tornasol, dos no la alteran, otras cinco la coagulan solamente mientras que la última reduce el tornasol. La caseína no es digerida por ninguna de las cepas. Cepas posiblemente relacionadas con las siguientes especies:

Bacillus cytaseus.

Bacillus brederianii.

Bacillus maculatus.

### GRUPO VIII

#### Cepas:

Constituido por veintitres cepas: 28, 30, 73, 82, 83, 84, 85, 90, 117, 125, 131, 163, 168, 179, 182, 185, 186, 188, 190, 192, 200, 216, 267.

#### PRODUCTORAS DE COLONIAS AMARILLAS (5 cepas)

Todas licuantes de la gelatina, no reductoras de nitratos ni productoras de indol y sulfhídrico. Cuatro de las cepas acidifican la glucosa y solo tres de ellas lo hacen con la lactosa.

Alcalinizan la leche y ninguna digiere la caseína.

Relacionamos estas cepas con las siguientes especies del género Micrococcus:

Micrococcus subflavescens

Micrococcus subflavus

Micrococcus flavescens

Micrococcus subnitreus. Esta especie y la anterior difieren de las estudiadas en que no producen cambio en la leche.

Micrococcus luteolus

#### PRODUCTORAS DE COLONIAS ROJAS, (8 cepas)

##### Gelatina licuada (4 cepas)

Acidifican la glucosa y alcalinizan la lactosa, no reducen los nitratos y no producen indol o sulfhídrico. La leche es alcalinizada y la caseína no digerida. Incluiremos aquí la siguiente especie:

Micrococcus roseus

##### Gelatina no licuada (4 cepas)

Acidifican la glucosa y alcalinizan la lactosa, reducen los nitratos formando nitritos con excepción de una cepa y ninguna es productora de indol o sulfhídrico.

La leche es alcalinizada y la caseína es digerida sólo por dos cepas.

Posibles variedades de las siguientes especies:

Micrococcus rhodochrous

Micrococcus cinabaeus

COCOS NO CROMÓGENOS. (10 cepas)

Gelatina licuada (6 cepas)

Cuatro cepas acidifican la glucosa y las restantes la alteran poco aunque con tendencia a acidificar. La lactosa es acidificada por las cuatro cepas que son acidificantes de la glucosa y por otra que produce poco cambio en dicho medio de cultivo; la cepa restante no altera la lactosa.

Los nitratos son reducidos por dos cepas y ninguna es productora de indol o sulfhídrico. La leche es acidificada por todas las cepas y la caseína digerida sólo por tres.

Las cepas no productoras de nitritos las relacionamos con las siguientes especies:

Micrococcus sensibilis

Micrococcus freudenreichii

Gelatina no licuada (4 cepas)

La glucosa es acidificada por dos cepas mientras que una tercera no la altera y la cuarta la alcaliniza. La lactosa es alcalinizada por todas las cepas excepto una que la acidifica. No son productoras de nitritos a partir de los nitratos, indol y sulfhídrico.

La leche es acidificada por una cepa, alcalinizada por dos y no alterada por la última. La caseína no es digerida.

Como anteriormente se clasifican con seguridad las cepas no productoras de nitritos con las siguientes especies:

Micrococcus cardigans

Micrococcus candidus

GRUPO IX:

Sarcinas.

Integrado por 8 cepas. 31, 36, 58, 65, 86, 128, 174 y 176.

De las ocho cepas sólo cuatro dan colonias amarillas dando las restantes colonias blancas. No son móviles, Gram positivas con muy poca retención del colorante.

Licúan la gelatina y alcalinizan la glucosa y lactosa, no reducen los nitratos, salvo una cepa que lo hace. Ninguna es productora de indol o sulfhídrico.

La leche no es alterada y la caseína es digerida por cuatro cepas. Las cepas productoras de colonias amarillas posiblemente se hallan relacionadas con las siguientes dos especies:

Sarcina subflava, Sarcina aurantiaca.

Por lo que se refiere a las que presentan colonias blancas y que atacan la caseína, tal vez se encuentren identificadas a cepas de

la Sarcina caseolytica (Stark y Scherib; Jour. Dairy Sci. 19, 212 1936).

GRUPO X:

GRUPO "VARIOS".

Formado por cuatro cepas: 14, 17, 18, 44.

Todas móviles.

Tres semejantes en sus reacciones; licúan la gelatina, no alteran la glucosa y lactosa, reducen los nitratos, no producen ni indol ni sulfhídrico; la leche es alterada solamente en la reducción del tornasol. La caseína no es atacada.

Se ven bastones medios finos Gram negativos que presentan una pequeña curvatura; en las cepas fué posible observar órganos de locomoción al parecer polares, en la tercera no se observó nada.

La cuarta cepa está constituida por bastones cortos Gram positivos, sin elementos de locomoción identificados; no licúan la gelatina, no alteran la glucosa y lactosa, no reducen los nitratos y no producen ni indol ni sulfhídrico. La leche no es alterada y la caseína no es alterada.

Esta cepa parece presentar esporos polares, aunque como si fueran exógenos.

Todas las cepas integrantes de este grupo son sin clasificación segura.

GRUPO XI:

Levaduras.

Se aislaron cuatro cepas, que no se estudiaron.

---

VI - DISCUSION

Comenzando la discusión, recalcaamos nuevamente que los resultados que se acaban de exponer dan una idea de las características bacteriológicas de las bacterias del agua del Río de la Plata presentes en los meses de mayo a agosto del año 1945, y capaces de desarrollarse en las condiciones elegidas. No representan por lo tanto la verdadera distribución de la flora bacteriana del agua, estudio este que no es posible abordar mediante las técnicas de que hoy dispone la bacteriología. Se ha tratado en este trabajo en lo posible de utilizar los medios empleados por otros investigadores para obtener resultados por lo menos comparables.

MORFOLOGIA

Las cepas estudiadas son en su mayor parte bastones cortos, de bordes muy redondeados, con tendencia a coccobacilos, la mayoría gruesos y Gram negativos.

Las cepas móviles son las que predominan y sus órganos de locomoción son las cilias peritricas en la casi totalidad de los casos. No se han observado formas capsuladas, aunque existen cepas constituidas por bacterias en forma de coccobacilos gruesos y muy cortos, agrupados de a dos y como rodeados por una envoltura que no se presentó como cápsula en la coloración correspondiente.

Se encuentra un pequeño porcentaje de bacterias esperuladas, siendo pequeño el número de bacterias en forma coccida. Dentro de los cocos las sarcinas forman un grupo bien diferenciado aunque constituido por pocos organismos.

CARACTERES BIOQUIMICOSGELATINA.

En este medio todas las bacterias estudiadas desarrollan bien, existiendo un porcentaje grande de las que son licuantes haciéndolo la mayoría de estas dentro de los primeros días de incubación; solo un grupo licuaron más lentamente: diez a trece días.

GLUCOSA

No hay una acción constante. Mientras unas cepas se desarrollan, virando el indicador en forma neta, ya sea alcalina e ácida; hay otras que presentan una reacción distinta dentro del tubito de Durham y en el resto del líquido. También se observó con frecuencia cambios en la reacción del medio, luego de unos días de incubación.

En otros casos se produjo un cambio tan poco claro que es muy difícil establecer a ciencia cierta si se produjo alcalinidad e ácidos en el medio.

LACTOSA

Existen pocas cepas dentro de las estudiadas que fermenten este azúcar y en lo que se refiere a la acción general se puede repetir lo que se ha dicho de la glucosa.

PRODUCCION DE INDOL

Aunque el desarrollo en el agua de peptona fué bueno para todas las cepas,

la producción de indol fué muy poco frecuente.

#### PRODUCCION DE NITRATOS

Se estudió la producción de nitritos a partir de los nitratos. En general todas las cepas cultivan bien en el medio nitrado, existiendo también un alto porcentaje de bacterias formadoras de nitritos.

#### ACIDO SULFIDRICO

Se puede decir así lo que se mencionó para la producción de indol.

#### LECHE TORNASOLADA

Es este otro medio que no permite deducir resultados muy claros. El desarrollo fué para todas las cepas bueno; aunque no se puede dar una conclusión general, se puede decir que existen un gran número de microorganismos que no producen cambio y al lado de ellos unos que alcalinizan el medio, otros que coagulan y un número muy pequeño que acidifican. En lo que se refiere a la caseína hay un buen número de bacterias entre las estudiadas que la digieren, estando esta propiedad asociada a la licuación de gelatina.

---

---

VII - CONCLUSIONES

- A) Entre las bacterias estudiadas priman las Gram negativas; distribuyéndose en la siguiente forma entre Gram negativas y positivas:

61,65 % de Gram negativas.  
36,26 % de Gram positivas.

- B) Por su morfología, deben agruparse entre los bastones cortos, existiendo los cocos y los bastones largos en cantidades iguales.

67,35 % de bastones cortos.  
16,06 % de bastones largos.  
16,06 % de cocos.

- C) Las bacterias Gram positivas estudiadas se distribuyen casi en partes iguales entre bacterias esporuladas y cocos.

45,71 % de esporuladas Gram positivas.  
44,28 % de cocos Gram positivos  
10,0 % de otras bacterias.

- D) Las bacterias esporuladas aisladas y estudiadas, son en su casi totalidad esporuladas terminales, existiendo un pequeño número de esporuladas centrales.

- E) No se han aislado bacterias Gram negativas esporuladas ni cocos Gram negativos.

- F) Las cepas más abundantes son las licuantes de la gelatina y las reductoras de nitratos; existiendo una pequeña proporción de bacterias fermentadoras de azúcares con producción de ácido y gas.

55 % de licuantes de la gelatina.  
42,5% de reductoras de nitratos.  
5,7% de fermentadoras de azúcares.

- G) De la comparación de los resultados obtenidos con los citados por Taylor surgen las siguientes conclusiones:

La diferencia entre las cifras de licuantes de gelatina y reductoras de nitratos son en cada caso muy pequeñas para ser tomadas en cuenta, por lo que se puede decir que son iguales desapareciendo así la diferencia que podría anotarse en la comparación de los dos cuadros. Este sería igual al siguiente orden de frecuencia; licuantes de gelatina, reductoras de nitratos y fermentadoras de glucosa con producción de ácido y gas; orden que sería igual en los dos casos.

Es de hacer notar que los porcentajes son mayores en nuestro caso que en el de Taylor lo que indicaría una mayor actividad bioquímica de nuestras cepas.

COMPARACION CON LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR TAYLOR

	Rico y lagos ingleses Taylor	Río de la Plata
Bastones Gram negativos	95,5 %	61,65 %
Bastones Gram positivos	3,8 %	20,20 %
Oceos	0,7 %	16,06 %
Esperulados	6,0 %	16,58 %
Licuentes de la gelatina	24,0 %	55,00 %
Reductores de nitratos	26,0 %	42,5 %
Fermentadores de glucosa (ácido y gas)	5-6 %	5,7 %

---



VIII - R E S U M E N

- A) Se han estudiado morfológica y bioquímicamente 193 cepas aisladas de 10 muestras de aguas del Río de la Plata.
- B) Realizado el estudio del medio más apropiado en el que se ensayaron los siguientes medios: agar común, agar con extracto de limo, agar caseinato de sodio y agar caseinato de sodio con sales inorgánicas y materia orgánica; se eligió por el mayor recuento el último medio citado.
- C) El estudio de la temperatura de incubación que incluyó las temperaturas de 20 y 25° C dió como más conveniente la de 20° C.
- D) Se practicaron los siguientes estudios morfológicos en las cepas aisladas:  
Coloración del Gram, ácido resistencia, coloración de: cápsulas, esporas y cilias.  
Las reacciones bioquímicas efectuadas fueron las siguientes:  
Licuación de gelatina, producción de indol y ácido sulfhídrico, reducción de los nitratos con producción de nitritos, acción sobre la leche tornasolada, acción sobre la caseína y fermentación de glucosa y lactosa.
- E) Se han clasificado las cepas estudiadas en XI grupos atendiendo a sus caracteres morfológicos y bioquímicos; intentando en cada caso particular la inclusión dentro de la clave de Bergey.

IX - A P E N D I C EMEDIOS DE CULTIVOMedio empleado en el aislamiento. Taylor C.B. -J. Hyg. 40: 616-1940

Peptona .....	0,5 gra.
Caseinato de sodio .....	0,5 gra.
Almidon soluble .....	0,5 gra.
Glicerina .....	1 ml.
PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> .....	0,2 gra.
SO <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> .....	0,05 gra.
Cl <sub>2</sub> Fe .....	Trazas
Agar .....	15,0 gra.
Agar .....	1000 ml.

Se disuelven todos los componentes en el agua y se le agrega el agar, calentando hasta total disolución de este. Se filtra y esteriliza a 120° C.

Medio de agar caseína. Avers y Tanner.

Caseína .....	10 gra.
OHNa 1 N.....	7 ml.
Agar .....	10 gra.
Agua .....	100 ml.

Los 10 gra. de caseína y los 7 ml. de OHNa se mezclan bien y se le agregan los 300 ml. de agua, calentando hasta disolver. Una vez logrado esto, se lleva a 500 ml. con agua y se ajusta el pH a 7,4.

En otros 500 ml. de agua se disuelve el agar. Se filtran ambas soluciones y se mezclan; esterilizando a 120°C durante 20 minutos.

Medio empleado para la investigación de acción fermentativa de los estócos. Sells. Fundamentals Principles of Bacteriology.

Peptona Difco .....	10 gra.
ClNa .....	5 gra.
Glucosa o lactosa .....	5 gra.
Rojo fenol .....	0,018 gra.
Agua destilada .....	100,0 ml.

El pH se ajusta con solución de OHNa 1N a 7,4.

REACCIONES DE IDENTIFICACIONInvestigación de indol.

Técnica de Bohme- Ehrlich.

Se cultiva la cepa a estudiar durante 4 días a 20° C, en agua de peptona; al cabo de dicho tiempo se le agrega al cultivo 1 ml. de la solución A; que a continuación se indico; obteniéndose en los casos positivos un anillo violáceo en la zona de separación de los líquidos.

Solución A.

Paradimetilaminobenzaldehído .....	1 gr.
Alcohol amílico 95° .....	95 ml.
Acido clorhídrico .....	20 ml.

Investigación del ácido sulfhídrico. De Bell y Feltman. J. Bact. 28:169-1934

Se usaron trocitos de papel de filtro impregnados en una solución de acetato de plomo, colocándolos luego en una cápsula de Petri, para su esterilización en autoclave; secándolos finalmente a unos 120° C.

Se colocan en el cuello del tubo que contiene el cultivo, sujetándolos con el algodón, e incubando durante 6 días a 20° C. Se observan claramente y anotando como positivos los tubos cuyos papalitos se hallan notadamente ennegrecidos.

Investigación de nitritos.

Técnica de Ilosvay y von Ilosva.

Se usa en realidad el reactivo de dicho autor.

Se cultivan las cepas a estudiarse en un medio de cultivo que contiene agar común con 0,1 % de nitrato de potasio durante 4 días, al cabo de los cuales se vierten en el tubo unas 10 a 20 gotas de la solución A seguida de un número igual de gotas de la solución B. La presencia de nitritos y por ende la reducción de los nitratos por parte de la cepa a estudio, se observa por la aparición de un color rojo intenso.

Solución A.

Acido sulfamílico .....	0,8 grs.
Acido acético .....	30,0 ml.
Agua destilada .....	100,0 ml.

Solución B.

Alfa naftil amina .....	0,5 grs.
Acido acético .....	30,0 ml.
Agua destilada .....	100,0 ml.

ESTUDIO MORFOLOGICOCilias.

Método de tinción de cilias. Gray-Corn

Soluciones colorantes.

Mordiente

Sol. ac. sat. de alumbre de potasio .....	5 ml.
Sol. ac. sat. de cloruro mercurico .....	2 ml.
Sol. ac. al 20 % de ácido tánico .....	2 ml.
Sol. alcoh. sat. de fucsina básica .....	0,4 ml.

Es de recomendar su preparación 24 hs. antes de su uso. Se pudo comprobar que se obtenían mejores tinciones preparando el mordiente 20 a 22 hs. antes de su uso, y filtrando antes de usarlo.

### Cultivo.

Se usan cultivos hechos en agar inclinado de 18 a 22 hs. de edad. Se transporta con un ansa bien flameada y enfriada una pequeña cantidad de cultivo a un tubo con unos 5 a 10 ml. de agua estéril, la que ha sido dejada a la temperatura del laboratorio durante algunas horas (no usar agua muy fría ni muy caliente). Una vez bien mezclado todo se deja en reposo durante 5 a 10 minutos, no debiéndose exceder de ese tiempo para evitar que las ciliias se destruyan.

Se han observado buenos resultados con la siguiente técnica: Agregar unas gotas de solución al 1% de formal al cultivo en agar nutritivo, diluir con medio ml. de agua estéril, mover suavemente el tubo para facilitar la emulsión y dejar en reposo durante 5 minutos antes de hacer el extendido.

### Extendido.

Se deben usar porta objetos bien limpios; de preferencia nuevos. En su defecto portas que han sido bien limpios con sulfocrómica, flameados casi al rojo y conservados en alcohol con amoníaco.

Se hace sobre el porta un extendido con un ansa que lleva el material y se colocan a secar en estufa durante unos minutos a 37° C.

Una vez bien seco se aplica el mordiente dejándolo actuar durante unos 8 a 10 minutos; es de recomendar no exceder ese tiempo porque se favorecerían la formación de precipitados. Transcurridos los 10 minutos se lava el preparado alrededor de 10 segundos con agua corriente. Se seca al aire sin calentar y se colorea durante 5 minutos con fucsina fenicada de Ziehl y sin calentamiento. Lavar y secar al aire.

### Método de tinción de Zettnow

#### Soluciones.

- Sol. al 10% de ácido tánico
- Sol. al 5% de tártaro emético
- Sol. sat. de sulfato de plata
- Sol. al 10% de monoetilamina

#### Mordiente.

Se mezclan 5 ml de la solución de ácido tánico con 0,8 a 1 ml. de solución de tártaro emético (la cantidad conveniente es la que origina en caliente un líquido límpido, que enturbia en frío).

#### Cultivo.

Se usan de preferencia cultivos de 12 hs. pero pueden usarse también cultivos cuya edad no pase de las 24 hs. Se puede preparar la suspensión en agua estéril agregando unas gotas de solución al 2% de ácido ósmico (se pueda reemplazar este por una solución al 1% de formal), o aún agregar las gotas de solución de formal y un ml. de agua estéril al tubo con el cultivo; dejarse en los dos casos tres minutos en contacto.

Extendido

Se trabaja de preferencia con cubres, aunque hay autores que prefieren el uso de portaobjetos. En los casos que se usó este método se emplearon cubreobjetos.

Los cubre objetos deben satisfacer todas las existencias posibles en lo que a su limpieza se refiere; el desengrasado se puede hacer con alcohol, lo que dá buenos resultados.

Se hace el extendido con un ansa de suspensión y se deja secar a estufa a 37° C. colocándolo invertido sobre un vidrio de reloj; luego se vuelve la solución caliente de mordiente dejando en contacto durante 10 minutos, al cabo de los cuales se lava durante 6 minutos con una suave corriente de agua común y finalmente con abundante agua destilada. Secar con papel de filtro y agregar unas gotas de la solución que resulta de macerar.

1 volumen de solución saturada de sulfato de plata, con otro de solución de monostilamina tal que produzca una ligera opalescencia.

Calentar el cubreobjetos suavemente hasta emisión de vapores durante 3 a 4 minutos y por último lavar con agua destilada, escurrir y secar suavemente con papel de filtro.

REACCION DE GRAM.

Técnica de Kopeleff y Beerman.

Soluciones colorantes.Solución A.

Violeta de genciana o violeta cristal ..... 1 gr.  
Agua destilada ..... 100 ml.

Solución B.

Bicarbonato de sodio ..... 1 gr.  
Agua destilada ..... 120 ml.

Solución C.

Iodo ..... 2 grs.  
Solución 1N de HONa ..... 10 ml.  
Agua destilada ..... 90 ml.

Colorante.

Fucsina básica ..... 0,1 gr.  
Agua destilada ..... 100 ml.

Técnica operatoria

Se trabaja sobre cultivos jóvenes (24 hs). Con un ansa se toma una pequeña porción de material y se extiende en un portaobjetos ayudando con una gota de agua estéril. Secar al aire y colorear con una mescla de las soluciones A y B en las siguientes proporciones:

Solución A ..... 1,5 ml.  
Solución B ..... 0,4 ml.

Dejarse el colorante en contacto con el extendido 5 minutos. Transcurrido dicho tiempo lavar con solución C y luego dejar 2 minutos en contacto di-

esta solución, volcar (sin lavar) decolorar con acetona 100 %, secar al aire y cubrir con la solución colorante dejando en contacto durante 10 a 30 segundos. Lavar con agua, secar al aire.

En vez de usar acetona 100 %, que tiene un poder decolorante muy grande se puede usar una mezcla de acetona y alcohol.

### COLORACION DE ESPORAS.

Técnica de Dornier.

#### Soluciones colorantes.

##### Fussina fenicada de Ziehl Nielsen

✓ Fussina básica .....	0,3 grs.
Alcohol (95) .....	10,0 ml.
Fenol .....	5,0 grs.
Agua destilada .....	95,0 ml.

Disolver la fucsina en el alcohol y el fenol en el agua destilada; mezclando luego las dos soluciones.

Solución acuosa de nigrosina al 5 %.

#### Técnica operatoria

Se hace una suspensión espesa de las bacterias en 2 a 3 gotas de agua destilada, en un tubo de ensayos pequeño. Se agrega igual de solución fresca y filtrada de Ziehl. Se agita para mezclar bien y se coloca el tubo a baño maría durante 10 minutos.

Transcurrido dicho tiempo se mezclan en un portaobjetos un ansa de la suspensión bacteriana y un ansa de solución de nigrosina filtrada, extendiendo para formar una capa fina que se seque no muy lentamente.

### COLORACION DE CAPSULAS.

Técnica de Gims.

#### Soluciones colorantes.

Tinta china.  
Solución de safranina.

#### Técnica operatoria.

Sobre un extremo de un cubreobjetos se coloca una gota de tinta china diluida con una gota de agua destilada. Una vez bien mezclado se agrega un ansa de un cultivo del microorganismo en caldo glucosado al 2 %. Se homogeniza bien con un ansa y con ayuda de otro portaobjetos se hace un frotis, el cual debe ser lo suficiente fino para que seque rápido. El secado se completa con el fijado por el calor.

Una vez que se tiene la preparación bien fijada se cubre con solución de safranina, dejando en contacto durante 30 segundos, transcurrido dicho tiempo se vuelca el colorante y se absorbe el resto con papel de filtro, terminando el secado al aire.

Se observan las cápsulas incolores resaltando sobre el fondo oscuro de la tinta china y el cuerpo bacteriano rojo.

### ACIDO RESISTENCIA.

Técnica de Ziehl Nielsen

Soluciones colorantes

Solución de fucsina fenicada de Ziehl Nielsen.  
Solución de alcohol ácido.

Acido clorhídrico ( 37 %) ..... 30 ml.  
Alcohol (95 %) ..... 70 ml.

Solución de azul de metileno.

Azul de metileno (90 % de colorante) ..... 0,05 grs.  
Agua destilada ..... 1000 ml.

Técnica operatoria .

Se hace un extendido sobre un portaobjetos bien limpio, ayudándose una gota de agua estéril. Se seca y fija a la llama, cubriéndolo una vez frío con solución de fucsina fenicada; dejando en contacto durante 20 minutos. Transcurrido dicho tiempo se lava la preparación y se decolora con alcohol ácido. Lavar nuevamente con agua. Sobre la preparación así tratada se vierte la solución de azul de metileno, dejando actuar durante 1 minuto. Lavar luego con agua y secar al aire.

---

---

*Ewald G. H.*

X - BIBLIOGRAFIA

- Bergey's Manual of determinative bacteriology. Ed. 1939
- Boyce y Hill. A clasification of microorganisms found in water.  
J. Path. Bact. 6: 32-1900
- Burke V. Interchange of bacteria bettween the fresh water and the sea.  
J. Bact. 27: 201.
- Burke y Baird. Fate of fresh water bacteria in the sea.  
J. Bact. 21: 287
- Comité de bacteriólogos americanos. The families and genera of bacteria.  
J. Bact. 5: 191
- Conn y Wolfe. Flagella staining as a routine test for bacteria.  
J. Bact. 36: 517-20.
- Conn y Wolfe. The flagelation of bacteria.  
Science 87: 283-1938
- Conn, Wolfe y Ford. Taxonomic relationships of Alcaligenes spp. to cer-  
tain soil saphrophytes and plant parasites.  
J. Bact. 39: 207
- Ferramola y Monteverde. Organismos del género Pseudomonas en aguas del país.  
Bol. O.S.N. N°27 Sep 1939.
- Fuller y Johnson. On the diferentiation and clasificacation of water baste-  
ria.  
J. Exp. Med. 4: 609.
- Gray P.H. A method of staining bacterial flagella.  
J. Bact. 12: 273
- Geer J. J. Infec. Des. 42: 501-1928
- Henrici A. T. Studies of fresh water bacteria.  
J. Bact. 35: 129-1938
- Hofer A.W. y Wilson - J. Bact. 13: 75-1938
- Jordan E. O. The kinds of bacteria found in river water.  
J. Hyg. 3: 1-1903
- Leifson E. A methods of staining bacterial flagella and capsules together,  
with a study of the origin of flagella.  
J. Bact. 20: 203- 1930
- Lockhead A. y Tayler C.B. Qualitatives studies of microorganisms.  
Can. J. Res. 16: 152-1938
- Manual del comité de bacteriólogos america os. Ed. 1938-1939



Rennebaum. J. Bact. 30: 625-1935

Salle. Fundamentals principles of bacteriology.

Sandiford. J. Path. and Bact. 41: 77-1935

Schiavone. Bacterias y otros microorganismos del agua.  
Rev. Sanidad Militar. 41: 894

Tauer P.W. A study of green fluorescent bacteria from water.  
J. Bact. 3: 63-1918

Taylor C.B. Distribution of bacteria in English lakes.  
J. Hyg. 40: 616-1940

Taylor C.B. Bacteria of fresh water. The types of bacteria present in lakes and streams and their relationship to bacterial flora of soil.  
J. Hyg. 42: 284-1942.

Topley y Wilson. Principles of bacteriology and immunity.

Ward H. M. Bacterial flora of the river Thames.  
Proc. Roy. Soc. 61: 415

