

76:4

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS QUIMICAS

EL CONTROL DE LAS PASTILLAS DE  
BACILOS ACIDOFILOS EN RELACION  
CON LA PRESENCIA Y ABUNDANCIA  
EN ELLAS DE BACILIO SUBTILIS

T E S I S

Que para su examen profesional  
de Químico Farmacéutico Biólogo  
presenta el alumno  
IGNACIO ISRAEL LIFSHITZ. Z.

MEXICO, D. F.

1 9 4 3



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*A MIS QUERIDOS PADRES*

*A MIS HERMANOS*

*A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS*

A LA MEMORIA  
DE MI ILUSTRE MAESTRO Y QUERIDO AMIGO  
Q. F. FROIM COMAROFKY

*Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Francisco Paz; Q.F. Francisco García; Dr. F. Cortés Teixeira, Dr. I. Starominsky, por el apoyo espiritual prestado para la realización de este trabajo.*

*Deseo también hacer extensivo este agradecimiento al personal del Laboratorio Central del D. S. P. que tan gentilmente me brindó su ayuda.*

*México, D. F. septiembre, 1943*

*EL CONTROL DE LAS PASTILLAS DE BACILOS  
ACIDOFILOS EN RELACION CON LA PRE-  
SENCIA Y ABUNDANCIA EN ELLAS  
BACILO SUBTILIS*

Aunque la fermentación láctica era conocida de antiguo por aplicación en la industria de los quesos, no fué sino hasta 1841 cuando Bourton y Frémy (1) lograron describir dicha fermentación. Posteriormente Pasteur descubrió como se verificaba, pero su obtención a partir de cultivos puros no fue posible hasta 1896.

Orla-Jensen (1), en 1919, divide las bacterias productoras de ácido láctico en dos grandes grupos:

1.—LAS VERDADERAS BACTERIAS LACTICAS, que producen solamente ácido láctico a partir de azúcares, gram positivas no esporuladas, inmóviles, bastones y cocos que no crecen en ausencia del N orgánico, no reducen los nitratos. Entre éstas encontramos el Lactobacilo Búlgaro y el Estreptococo Láctico.

2.—LAS FALSAS BACTERIAS LACTICAS O PSEUDOLACTICAS que producen, además de ácido láctico, ácidos volátiles, CO<sub>2</sub> y rara vez fermentan más de la mitad del azúcar. Estos gérmenes reducen los nitratos. Este grupo incluye gérmenes del tipo Coli aerógenos y ciertos gérmenes patógenos.

Las bacterias lácticas verdaderas, denominadas también acidófilas por pertenecer precisamente a este grupo, son importantes para la bacteriología médica. Su existencia en la boca, intestinos, órganos genitales y sus usos terapéuticos en los desarreglos intestinales, lo mismo que su posible papel etiológico en la producción de las caries dentales, las hace particularmente interesantes.

Se conocen cerca de treinta especies diferentes de bacilos acidófilos, pero los más interesantes, a nuestra manera de ver, son: Lactobacilo bífido, bacilo de Doderlein y Bacilo Acidófilo de Moro.

El primero de ellos es un organismo gram positivo, aparece frecuentemente en forma de Y, aislado por Tissier de las heces de los lactantes. Tissier cree que este organismo es diferente del Bacilo Acidófilo de Moro (4), aunque sí afirma que hay una relación entre ambos.

El bacilo de Doderlein es más largo que el anterior, visto en los frotos vaginales, gram positivo, siendo probablemente idéntico al B. acidófilo.

El bacilo de Boas-Oppler encontrado en el estómago en la estasis gástrica, es también una variedad de bacilo acidófilo.

Los representantes más importantes de este grupo y los que más nos interesan por usarse en la terapia lácteo-bacilar son: el Lácteo-bacilo Búlgaro y el Lácteo-bacilo Acidófilo de Moro. Kendall, Rettger y otros investigadores han estudiado estos organismos para fijar su acción bioquímica y diferenciarlos.

La diferenciación entre ambos microorganismos es difícil y frecuentemente incierta; un punto diferencial importante es, que el bacilo búlgaro es normalmente un-saprophyte capaz de producir la acidificación de la leche; pero que no tiene la facultad de fijarse en el tracto intestinal; en cambio, el bacilo acidófilo se fija frecuentemente (4). Tampoco es posible hacerlo que vuelva a crecer en un medio de lactosa, peptona y lavadura, ni crece en

un medio que contenga 2.5 % de NaCl, y también se obtienen siembras negativas en medios con pH 7.8. El Láctebacilo acidófilo, en cambio, crece en todas estas condiciones (7).

Por siembra en placa de gelosa podemos diferenciar dos clases de bacilos acidófilos, los que dan colonias lisas (Tipo S) y los que dan rugosas (Tipo R). Las cepas tipo R son mucho más activas para la implantación intestinal que las de tipo S.

El Láctebacilo Acidófilo de Moro, se conoce también con el nombre de *Plocamobacterium acidofili* o *Terrobacterium intestinisi* y, probablemente, es el mismo (3) que el Láctebacilo de Boas-Oppler, *bacillus exilis*, *bacillus gestrophilus* y otros más.

Estudiado por Moro, Kulp, Reperger, Curran, Rogers y otros, se presenta en forma de bastoncillos de 0.6 a 0.9 por 1.5 a 6 micras; generalmente, en pares y en cadenas cortas de extremos afilados, es inmóvil, gram positivo y según Moro, en cultivos viejos, a veces gram negativo, no licúa la gelatina. En gelosa peptonizada con jugo de jitomate (3) y en otros medios selectivos, como agar caseína disgregada, (6) hay elevaciones delicadas y filamentosas dando a la colonia un aspecto rugoso con apariencia lanosa. Excepcionalmente, las colonias pueden ser lisas. La leche es coagulada en muchos casos muy lentamente con coágulo firme; si es leche tornasolada, el tornasol es reducido. En la fermentación de la lactosa se forma una mezcla de ácidos, entre los cuales se incluyen algunos volátiles, (4) comunmente, de un 12 a 20% del ácido total. Los ácidos volátiles son, fórmico, acético y butírico. El ácido láctico que se forma es completamente racémico. Se forman también pequeñas cantidades de CO<sub>2</sub>, pero no es posible evidenciarlas por el método ordinario del tubo de fermentación. Se conocen, sin embargo, unas cuatro variedades de bacilos acidófilos productores de gas, clasificación que se ha hecho basándose en los tiempos del crecimiento y en la fermenta-



ción de la lactosa, arabinosa, sacarosa y rafinosa (8). La acción sobre otros azúcares es distinta, así el manitol es raramente fermentado, y la mitad de los cultivos fermenta la salicina (6).

La valoración de los datos clínicos resultantes de la terapia lácteobacilar, es difícil, ya que han sido usadas muchas preparaciones de bacilo acidófilo inactivo. Los mejores resultados se han obtenido por aquellos preparados cuyo control respecto a su actividad ha sido cuidadosamente hecho.

El bacilo búlgaro entró en prominencia en 1908, cuando Mechnikoff popularizó su teoría de la longevidad. Según él, la vida larga se lograba sometiéndose a un régimen dietético en el cual predominara la leche agria. Esto, decía, sucede con los búlgaros que son, como se sabe, grandes consumidores de esta leche.

Mucha literatura clínica incriticable existe acerca de este hecho, dando origen a un consumo de bacilo búlgaro en diversas formas, en leche y en cultivos puros o mezclados con diversos alimentos.

La virtud principal atribuída a este microorganismo es la facultad de desplazar la flora intestinal putrefactiva por la producción de ácido de origen fermentativo. Se ha supuesto que muchas alteraciones son debidas a la "autointoxicación" por la absorción de productos putrefactivos formados en el intestino. La constipación es uno de los síntomas más importantes eliminados por el bacilo búlgaro, también se notan sus efectos terapéuticos en ciertas diarreas y otros desarreglos intestinales.

El lactobacilo búlgaro es conocido también con el nombre de *Bacillus A. Grigoroff*, *Thermobacterium Bulgaricum* o simplemente *Bacillus Bulgaricus*. (3) Estudiado por varios investigadores, como Luersey, Kühn, Grigoroff, Cohendy etc. Se presentan como bastoncillos finos de extremos arredondados, frecuentemente en cadena, no móviles, gram positivos; los cultivos viejos mues-

tran porciones no tenidas. Este gérmen no licúa la gelatina, las colonias en ésta son planas, blanco amarillentas, de 2 a 3 mm. En los cultivos viejos el centro se oscurece. Las colonias profundas son esféricas. En gelosa las colonias pueden ser circulares o irregulares.

La leche es coagulada a 37°, sin gas ni descomposición de la caseína. En papa las colonias son blanco amarillentas, no produce indol en los cultivos ni tampoco reduce los nitratos. La producción de ácido resulta de la fermentación de diversos azúcares. La dextrosa, lactosa y galactosa son siempre fermentadas, en cambio, la xilosa, arabinosa, sorbosa, ramnosa, el dulcitol, manitol, dextrina, inulina y almidón, no fermentan nunca (3).

Comunica una gran acidez a la leche y el ácido láctico, es inactivo (Grigoroff) aunque otros dicen que es levógiro; según unos autores este germen es anaerobio y aerobio (facultativo) y según otros microaerófilo. (3). Originalmente fué aislado del yoghurt, pero probablemente se encuentra en otros muchos productos lácticos.

Muchos absurdos han sido aclarados sobre la transformación de la flora intestinal por las investigaciones científicas de Rettger, Kendall y otros; la mayoría de los trabajos más interesantes ya sean éstos clínicos o bacteriológicos llegan a las siguientes conclusiones:

El lactobacilo búlgaro no puede establecerse en el intestino y en consecuencia no tiene efecto sobre la flora intestinal. (4). Otras clases de bacilos acidófilos sí pueden establecerse en el tracto intestinal del hombre, cuando se ingieren con ellos hidratos de carbono, lactosa o dextrina; ésto origina una reacción intestinal produciendo condiciones desfavorables para el desarrollo de las bacterias putrificantes.

Esta es la base de la terapia lácteobacilar moderna. Las cepas seleccionadas y cultivadas en leche u otro medio, son prescritas para ingerirse con leche agria u otro alimento a pacientes que sufren de constipación, dia-

rea u otra variedad de desordenes intestinales. Sin embargo, esta forma terapéutica tiene un valor limitado, ya que la administración de ácido láctico en leche en muchos casos es tan beneficiosa como la administración de bacilos acidófilos, salvo el hecho de una mayor actividad del ácido láctico naciente que provoca la bacterioterapia láctica.

Esta forma de terapia tiene menos estimación de la que tuvo en la época de 1920 a 1930 y en nuestra opinión (4) su uso será limitado en el futuro a relativamente pocos casos.

En la terapéutica actual el uso de pastillas de bacilos lácticos está más generalizado que antes, cuando por lo general se utilizaban ampollitas conteniendo los gérmenes en suspensión en su propio medio de cultivo, ya fuera éste caldo lactosado o suero de leche; este último más usado. Esta generalización se debe a que es más agradable, por lo regular, la forma medicamentosa de pastillas que la del líquido, en donde inmediatamente se nota el sabor que para muchas personas es incluso repugnante. La forma medicamentosa de pastillas no se disuelve en la boca y por consiguiente no hiere al gusto.

Sin embargo, las pastillas, dado a que su proceso de elaboración es más complicado ya que implica la adición de substancias extrañas como materias inertes y fijadores, y debido a que hay que pasarlas por una máquina pastilladora, que es materialmente imposible tener estéril, sufren contaminaciones con los gérmenes existentes en el aire y de éstos el que predomina y es casi imposible de evitar, es el bacilo subtilis.

El bacilo subtilis no es un bacilo patógeno; es largo, esporulado, se agrupa en cadenas, mide 0.8 a 1.2 por 1.5 a 3.5 micras. (2) La espora es central; pero puede ser excéntrica. Es móvil debiendo esta movilidad a sus flagelos peritricos, se tiñe con los colores normales de la anilina y toma el gram. Es facultativo, pero, cuando vive en aerobiosis, consume grandes cantidades de O. Se

cultiva bien en todos los medios comunes; en gelosa da placas ligeramente grisáceas y las colonias aisladas son granulares con bordes aserrados teniendo mucha tendencia a volverse confluentes; licúa la gelatina y enturbia el caldo dando velo y abundante sedimentación. La leche tornasolada vira alcalino y se peptoniza, no reduce los nitratos ni produce indol, da abundante desarrollo en papa, teniendo éste un aspecto rugoso característico.

La presencia de bacilo subtilis en las pastillas, origina que éstas, al ser sometidas al control, no den coágulos característicos como debieran darlos los bacilos lácticos; el desarrollo de esta tesis tiene por objeto el estudio de esta simbiosis en las pastillas y su influencia en el control.

### *Control de los productos destinados a la Bacterioterapia*

#### *Láctica. (5)*

El reglamento en vigor para la comprobación de sueros antitóxicos y antimicrobianos y de las vacunas, señala en el artículo veintinueve:

“En los productos destinados a la bacterioterapia láctica, sólo serán admitidos los que contengan *Lactobacillus Bulgaricus* (Grigoroff) o *Lactobacillus Acidophilus* (Moro) vivos y activos”.

“El control de éstos productos será hecho”:

- a) —“Por siembra en leche tornasolada, debiéndose coagular la caseína y virar el medio en 48 horas”.
- b). —“Por bacterioscopía”.
- c). —“Por carencia de producción de gas en los cultivos”.

“El plazo de caducidad será de 6 meses para los cultivos líquidos y 10 para los secos”.

Basándose en el control oficial de éstos productos y

en la biología de los gérmenes que intervienen en este estudio, se trazó el plan de trabajo a seguir:

### *Plan de Trabajo*

El objeto fundamental de esta tesis consiste en encontrar un punto de partir del cual los coágulos obtenidos en el control sean francamente rechazados por no ser característicos, partiendo por supuesto de un cultivo puro de bacilo subtilis que se añadirá a tubos de leche tornasolada que contengan bacilos lácticos, se dejará incubar 48 horas a la estufa y se verá el aspecto del coágulo. Tomamos en vez de pastillas un producto comercial líquido que no tiene por qué estar contaminado, este producto líquido lo sometimos al control antes de usarlo en las experiencias, habiendo obtenido a las 48 horas un viraje del medio y un coágulo consistente y uniforme.

Los productos usados para los ensayos fueron distintos; pero por comodidad se trabajó con un mismo lote de "Ifulactol" y "Lactoshigia" siendo el producto primero el que más usamos y con el que fueron hechas la mayor parte de las experiencias que citaremos a continuación.

Con el objeto de obtener resultados que se pudieran someter a interpretaciones posteriores, hicimos variar primero las cantidades de bacilo subtilis, que se añadían a cantidades fijas de bacilos lácticos, y como esto no nos pareció suficiente, tuvimos que trabajar también haciendo variar las cantidades de bacilos lácticos, que se ponían en presencia de cantidades iguales de bacilos subtilis.

El bacilo subtilis se aisló de la paja de la manera siguiente: se hizo un cocimiento ligero de paja, se dejó enfriar y se sembró en una placa de gelosa un asa del producto; a las 24 horas pudimos aislar colonias típicas, resembrando de una de éstas logramos obtener un cultivo puro.

Este cultivo fué comprobado microscópicamente y por medio de siembras en gelosa, leche, y gelatina para tener la completa seguridad de la identidad del germen aislado.

Teniendo ya el cultivo comprobado procedimos a desarrollar el trabajo.

## *E x p e r i e n c i a s*

### I

Se dispusieron siete tubos de leche tornasolada, y se sembró en cada uno un c.c. de suspensión de bacilos lácticos ("Ifulactol") menos en el séptimo tubo que nos sirvió de testigo. Al mismo tiempo se preparó la suspensión de bacilo subtilis de 2,500 millones por c.c. suspendiendo una siembra en gelosa con suero fisiológico; esperamos que los grumos gruesos se asentaran y decantamos con una pipeta estéril; se ajustó a la concentración ya señalada con el nefelómetro y después añadimos a los tubos que ya tenían bacilos lácticos (menos el tubo 6 testigo) cantidades crecientes de bacilos subtilis, según el esquema siguiente: (Cuadro A)

CUADRO A

Número del tubo	1	2	3	4	5	6	7
B. lácticos *	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	—
B. subtilis 2,500 millones	0.2 c.c.	0.4 c.c.	0.6 c.c.	0.8 c.c.	1 c.c.	—	0.2 c.c.

\* El "Ifulactol" según el marbete es una suspensión de bacilos lácticos búlgaros (Grigoroff) y acidófilos Moro de 250 millones por c.c.

Se dejó a la estufa por 48 horas.

*Resultados de la siembra.*—Ninguno de los tubos dio coágulo atípico, y los testigos (tubos No. 6 y 7) estuvieron correctos, es decir, el tubo 6 dio un coágulo típico como todos los demás, y el tubo 7 dio viraje alcalino con una peptonización notoria sobre todo en la parte superior del tubo.

En vista del resultado obtenido, se decidió aumentar la cantidad de bacilo subtilis al doble (5,000 millones); operando en condiciones análogas al caso anterior y en donde también los tubos seis y siete sirvieron de testigos.

*Resultados de la siembra.*—Ninguno de los tubos dio coágulo atípico; los tubos seis y siete estuvieron correctos.

Esta última prueba fué repetida dos veces más obteniéndose resultados análogos a los ya señalados.

En consecuencia pensamos cambiar de técnica; en efecto, pusimos cantidades fijas de *B. subtilis*, y cantidades variables de bacilos lácticos; operamos también en siete tubos, dos de los cuales servían de testigos. Las suspensiones bacilares que se usaron en esta prueba fueron de la misma concentración que en el caso anterior.

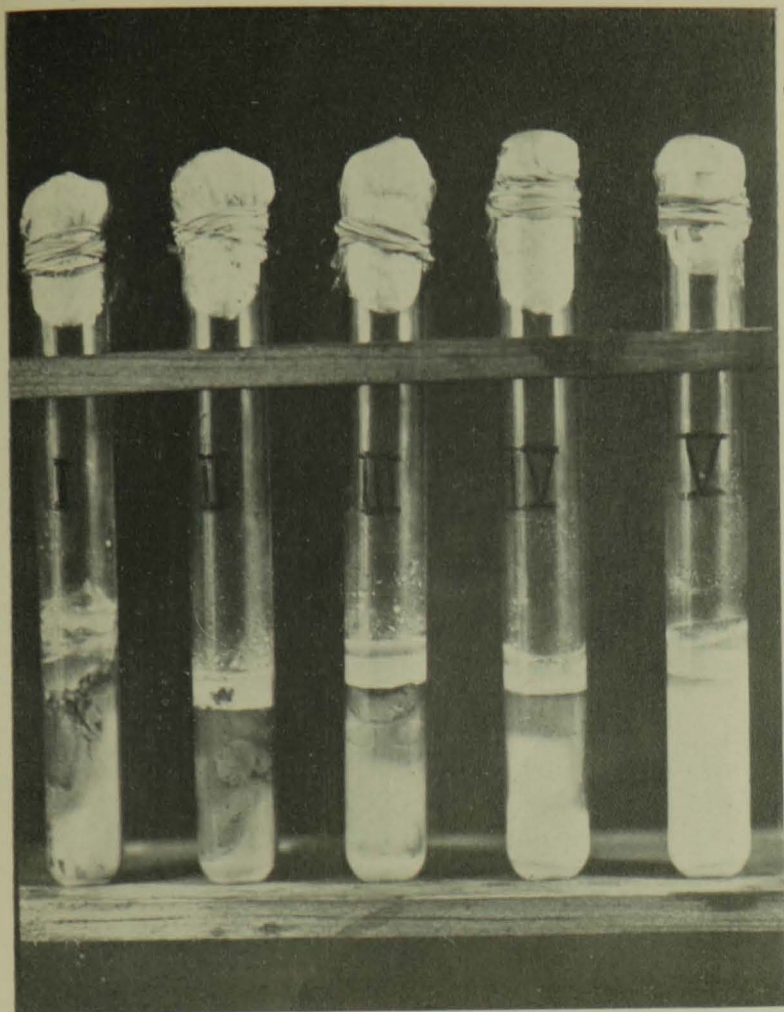
El siguiente cuadro (B) tiene resumida la técnica seguida:

CUADRO B

Número del tubo	1	2	3	4	5	6	7
B. lácticos *	0.2 c.c.	0.4 c.c.	0.6 c.c.	0.8 c.c.	1 c.c.	0.2 c.c.	—
B. subtilis 5000 millones	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	—	1 c.c.

\* El "Ifulactol" tiene 250 millones de gérmenes por c.c. según su marbete.

*Resultado de la siembra.*—Ninguno de los tubos dio



#### DISTINTO ASPECTO DE COAGULOS PRODUCIDOS POR BACILOS ACIDOFILOS

Los primeros tubos de la serie, presentan coágulos más imperfectos que los últimos, pero sin embargo, se aceptan como correctos

Las sombras que se observan, se deben a la tintura de tornasol, que, si bien fué reducida completamente en un principio, viró a rojo después.





coágulo atípico, los tubos seis y siete, testigos, estuvieron correctos.

Esta experiencia se repitió unas seis veces más obteniéndose en todos los casos resultados análogos.

En vista de estos hechos se pensó disminuir la actividad (envejecer) de los bacilos lácticos antes de efectuar las siembras experimentales.

## II

Para disminuir la actividad de los bacilos lácticos pusimos en estufa a 37° C. los tubos de "Ifulactol" y "Lactoshigia" que nos iban a servir para hacer las pruebas; y empezamos a hacer las siembras de experimentación, sembrando en la forma que ya habíamos señalado en el cuadro anterior (B), es decir, cantidades fijas de bacilo subtilis (1 c.c. de una suspensión de 5000 millones) y cantidades variables de bacilos lácticos puestos a la estufa un tiempo determinado que fué de 24, 48, 72 horas y de 4 a 14 días.

El resultado de estas experiencias es el que marcamos resumido en el cuadro (C) —página 29— pero, recordamos que para cada prueba se usaron dos tubos testigos que corresponden en este caso también a los números seis y siete.

La ligera discrepancia que se observa en los resultados de este cuadro se debe probablemente a que no es posible lograr suspensiones microbianas perfectas.

## III

Por último, para determinar si la esponjosidad del coágulo en la simbiosis estudiada se debía a una producción de gas o bien, simplemente a una digestión de la caseína, sembramos una serie de tubos en condiciones idénticas.

ticas a las que prevalecieron en las experiencias anteriores; pero se puso dentro del tubo de leche tornasolada, una campana a manera de los tubos de Bezon, los bacilos lácticos usados en esta prueba, fueron puestos antes a la estufa 14 días, obteniéndose a las 48 horas de cultivo los coágulos esponjosos característicos; pero en ningún tubo hubo desprendimiento de gas.

También sembramos para comprobación un tubo de esta serie con producto de un tubo con coágulo completamente desecho, obteniéndose a las 48 horas de resiembra, un coágulo esponjoso y desecho, pero nada de gas.

### *Discusión y Conclusiones*

Hemos observado durante las experiencias efectuadas los siguientes hechos:

1.—No se obtienen coágulos esponjosos ni desechos, si se hace la doble siembra con bacilos lácticos muy activos, aunque se pongan éstos en pequeña cantidad.

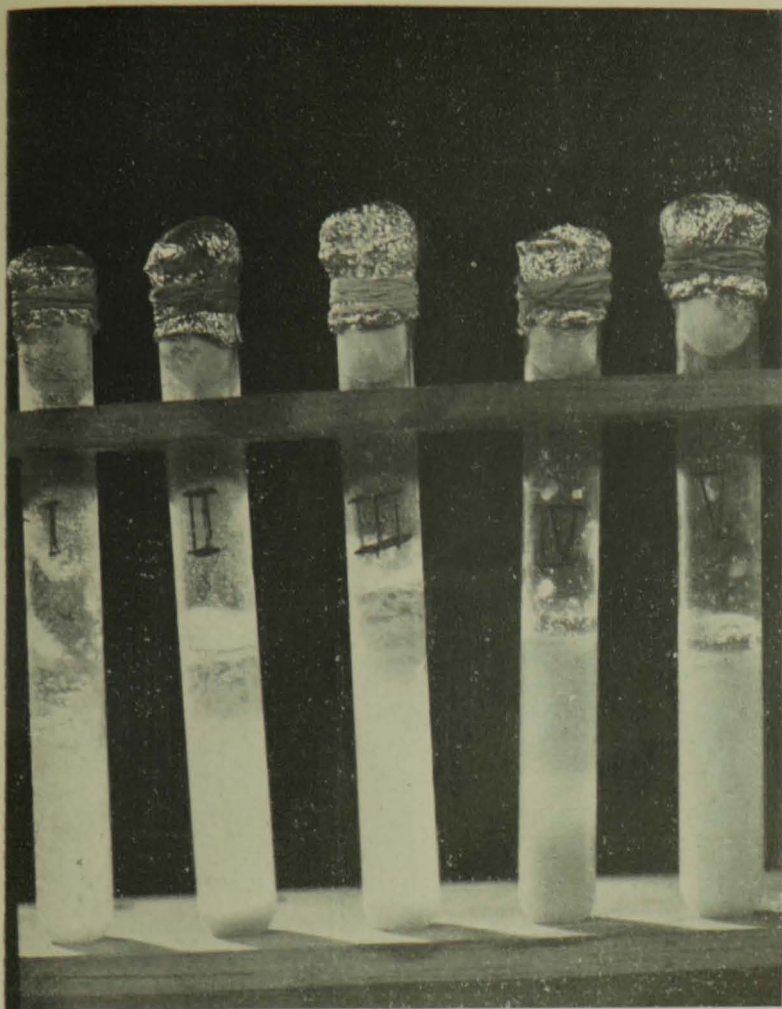
2.—Si los bacilos lácticos son activos, por muy grandes que sean las cantidades añadidas de bacilo subtilis, éstas no tienen influencia sobre la forma del coágulo.

3.—Se obtienen en la doble siembra coágulos malos con bacilos lácticos envejecidos, es decir, poco activos.

4.—En la simbiosis del bacilo subtilis con el B. láctico no hay desprendimiento de gas que pueda apreciarse en los tubos de fermentación.

Estos hechos indican que sobre un cultivo activo de B. láctico la contaminación con subtilis no tiene influencia, porque éste es completamente inhibido por el B. láctico activo.

Los bacilos lácticos en las pastillas, se encuentran en condiciones disgenésicas, y todavía sus condiciones empeoran si no se conservan a baja temperatura, por



**DISTINTO ASPECTO DE COAGULOS PRODUCIDOS POR LA SIMBIOSIS  
DE BACILOS ACIDOFILOS, CON BACILO SUBTILIS**

Los tubos I, II y III presentan coágulos completamente deshechos

El tubo IV presenta un coágulo malo, nada consistente y ligeramente peptonizado en la parte superior, y el V presenta un coágulo completamente deshecho. Esto se debe a la pequeña cantidad de bacilos acidófilos, que se les puso y a la poca actividad de los mismos.



esto, si se emplean bacilos de baja potencia en la fabricación de las pastillas, éstas serán rechazadas en el control.

Desde luego que las substancias que forman el cuerpo de la pastilla, lactosa, carbonato de Ca, etc., influyen; sobre todo el carbonato, que en presencia del ácido láctico que se genera, produce  $\text{CO}_2$ , y por consiguiente un coágulo esponjoso, debido también a ésto, en el desarrollo de las experiencias efectuadas en ésta tesis, no usamos pastillas sino un producto líquido carente de substancias extrañas a los propios gérmenes y a su medio de cultivo.

En síntesis diremos que en la fabricación de pastillas de bacilos acidófilos más que procurar evitar la contaminación por el bacilo subtilis, es recomendable que se parta de cepas lácticas muy activas.

### *R e s u m e n*

Se sembraron bacilos subtilis en presencia de bacilos lácticos, no obteniéndose coágulos atípicos, en ningún caso, a menos que a estos lácticos se les haya disminuído antes su actividad por tenerlos a la estufa un tiempo más o menos largo; la forma esponjosa de dichos coágulos no se debe a una producción de gas como se vió al sembrar con tubos de campana ("Tubos de Bezon"), sino a una digestión de la caseína.

En consecuencia puede pensarse que las pastillas que se someten al control salen malas, más bien por la baja actividad de los bacilos lácticos que contienen, que por la contaminación que sufren con bacilo subtilis en el proceso de su elaboración.



Número del tubo		1	2	3	4	5	6	7
Lácticos		0.2 c.c.	0.4 c.c.	0.6 c.c.	0.8 c.c.	1 c.c.	0.2 c.c.	—
Subtilis		1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	—	1 c.c.
Envejecimiento de bacilos lácticos a la estufa.	24 horas	típico	típico	típico	típico	típico	Correcto	Correcto
	48 horas	Suelto muy mal formado	muy suelto	mal formado	bastante malo	bastante malo	vira rojo sin coagular	Correcto
	3 días	Suelto sin consistencia	muy mal formado	muy esponjoso	bastante malo	muy malo	vira rojo sin coagular	Correcto
	4 días	nada consistente	muy mal formado	esponjoso	muy esponjoso	malo	vira rojo sin coagular	Correcto
	14 días	Suelto nada consistente	esponjoso y deshecho	muy esponjoso	esponjoso y deshecho	esponjoso y deshecho	vira rojo sin coagular	Correcto



## BIBLIOGRAFIA

1. Anderson.—An Introduction to Bacteriological Chemistry (172)
2. Kelsler A. Raymond.—Manual of Veterinary Bacteriology (201).
3. Bergey.—Manual of Determinative Bacteriology 336, 368).
4. Zinsser.—Textbook of Bacteriology (648, 651).
5. Diario Oficial de los Estados Unidos Mexicanos del 2 de Mayo de 1938.
6. Kolmer y Boerner.—Métodos de Laboratorio clínico (524).
7. M. Shermann and H. M. Hodge.—J. Bact 40, 11-22.
8. Carl S. Pederson.—J. Bact 35, 95-108 (1938).
9. Chemical Abstracts.—(1940-1938).