UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

PRIMEROS
EXÁMENES BACTERIOLÓGICOS
DEL
SUELO DE BUENOS AIRES

(Trabajos efectuados en el Laboratorio Bacteriológico de la Asistencia Pública)

TESIS INAUGURAL

PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA

POR

ALBERTO GRESLEBIN

Practicante del Hospital Rawson 1894
Ayudante por examen de concurso del Laboratorio Bacteriológico A. P. (1895 á 1901
Director del Museo del Circulo Médico Argentino 1896-97
Jefe del Laboratorio del Servicio de Ginecologia de la Facultad C. M. 1889-1901
Médico delegado del D. N. de Higiene para el estudio de la Peste
Bubónica en el Paraguay 1899-1900
Jefe del Laboratorio de la Casa de Expósitos 1900-1901

BUENOS AIRES

7836—Imprenta y Encuad. **Mariano Moreno,** Corrientes, 829

1901

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

PRIMEROS
EXÁMENES BACTERIOLÓGICOS
DEL
SUELO DE BUENOS AIRES

(Trabajos efectuados en el Laboratorio Bacteriológico de la Asistencia Pública)

TESIS INAUGURAL

PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA

POR

ALBERTO GRESLEBIN

Practicante del Hospital Rawson 1894
Ayudante por examen de concurso del Laboratorio Bacteriológico A. P. (1895 á 1901
Director del Museo del Circulo Médico Argentino 1896-97
Jefe del Laboratorio del Servicio de Ginecología de la Facultad C. M. 1889-1901
Médico delegado del D. N. de Higiene para el estudio de la Peste
Bubónica en el Paraguay 1899-1900
Jefe del Laboratorio de la Casa de Expósitos 1900-1901

BUENOS AIRES

7836 – Imprenta y Encuad. **Mariano Moreno,** Corrientes, 829

1901

La Facultad no se hace solidaria de las opiniones manifestadas en las tesis.

(Art. 162 del Reglamento).

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

Decano

DR. D. JUAN R. FERNÁNDEZ.

Vicedecano

DR. D. JOSÉ T. BACA.

Académicos Titulares

DR. D. LEOPOLDO MONTES DE OCA.
» » JOSÉ T. BACA.
» » RAFAEL HERRERA VEGAS.
» » JACOB DE TEZANOS PINTO.
» » EUFEMIO UBALLES.
» » JUAN R. FERNÁNDEZ.
» » ENRIQUE E. DEL ARCA.
» » PEDRO N. ARATA.
» » MANUEL BLANCAS.
» » ROBERTO WERNICKE.
» » PEDRO LAGLEYZE.
» » JOSÉ PENNA.
» » LUIS GÜEMES.
» » ELISEO CANTÓN.
» » GREGORIO N. CHAVES.

Académicos Honorarios

DR. D. ERNESTO ABERG.
» » EDUARDO WILDE.
» » MARTÍN SPUCH.
» » TELÉMACO SUSINI.
» » EDMUNDO NOCARD.
» » EMILIO R. CONI.
» » OLYNTHO DE MAGALHAES.

Secretario Titular

DR. D. ZENÓN AGUILAR.

Prosecretario

DR. D. CARLOS ROBERTSON.

ESCUELA DE MEDICINA

Asignaturas		Catedráticos Titulares
Zoologia Médica	Doctor	Pedro Lacavera
Fisica médica	»	Jaime R. Costa.
Química médica	»	Atanasio Quiroga.
Botánica médica	»	Martín Spuch
Química Médica	»	Pedro N. Arata.
Histología	»	Rodolfo de Gainza.
Anatomía descriptiva	»	Juan José Naón.
Patología general	»	Roberto Wernicke.
Anatomía topográfica	»	Juvencio Z. Arce.
Fisiología	»	Pedro J. Coronado
Anatomía patológica	»	Telémaco Susini.
Bacteriología	»	Carlos Malbrán.
Higiene	»	Melitón González del Solar
Materia Médica	»	Justiniano Ledesma.
Medicina operatoria	»	Adalberto Ramaugé.
Clínica ginecológica	»	Enrique Bazterrica.
» Oto-rino-Laringológica	»	Eduardo Ovejero
» Dermatológica y sifilográfica	»	Baldomero Sommer
Patología externa	»	Obdulio Hernández.
Patología interna	»	Marcial V. Quiroga.
Clínica Oftalmológica	»	Pedro Lagleyze.
» Médica	»	Luis Güemes.
« Epidemiológica	«	José Penna.
» Quirúrgica	»	Julián Aguilar.
» Neurológica	»	José M. Ramos Mejía.
» Médica	»	Francisco Sicardi.
Medicina legal	»	Francisco de Veyga.
Clínica Quirúrgica	»	Antonio C. Gandolfo.
» Médica	»	Gregorio N. Chaves.
» Obstétrica	»	Samuel Molina.
Toxicología experimental	»	Juan B. Señorans.
Clínica Pediátrica	»	Manuel Blancas.
» Médica	»	Abel Ayerza
» Génito urinaria (hombre)	»	Federico Texo
» Psiquiátrica	»	Domingo Cabred.
» Quirúrgica	»	Alejandro Castro.
Clínica obstétrica	»	Eliseo Cantón.

ESCUELA DE MEDICINA

Asignaturas		Catedráticos Sustitutos
Zoología Médica		Vacante
Física médica	»	Juan J. Galiano. (En ejercicio)
Química médica	»	Francisco Bosque y Reyes
Botánica médica	»	Lucio Durañona R. S. Kolbe
Química médica	»	Francisco P. Lavalle
Histología	»	Samuel de Madrid
Anatomía descriptiva	»	Juan D. Piñero Joaquín López Figueroa
Patología general	»	Gregorio Aráoz Alfaro
Anatomía topográfica	»	Avelino Gutierrez
Fisiología	»	Horacio Piñero
Anatomía patológica	»	José Badía
Bacteriología	»	Vacante
Higiene	»	Enrique Revilla
Materia médica	»	Enrique E, del Arca Angel M. Centeno
Medicina operatoria	»	Nicolás Repetto Alfonso Masi
Clínica ginecológica	»	Alfredo Lagarde José F. Molinari
Clínica Oto-rino-Laringológica	«	Wenceslao Tello Eliseo V. Segura. (En ejercicio)
Clínica dermatológica y sifilográfica	»	Maximiliano Aberastury
Patología externa	»	Pascual Palma Daniel J. Cranwell
Patología interna	»	Vacante
Clínica oftalmológica	»	Francisco Barraza Teófilo A. Moret
Clínica médica	»	Patricio Fleming
Clínica epidemiológica	»	Vacante
Clínica quirúrgica	»	Juan B. Justo
Clínica neurológica	»	José A. Esteves José A. Semprum
Clínica médica	»	Ricardo Colón
Medicina legal	»	Domingo S. Cavia
Clínica quirúrgica	»	Diógenes Decoud Alejandro Posadas
Clínica médica	»	Julio Méndez Ignacio Allende
Clínica obstétrica		Fanor Velarde
Toxicología experimental		Juan Alba Carreras
Clínica pediátrica	»	Antonio F. Piñero Facundo Larguía
Clínica médica	»	Vacante
Clínica génito urinaria (hombre)	»	Pedro Benedit
Clínica psiquiátrica	»	Benjamín T. Solari
Clínica quirúrgica	»	Vacante
Clínica obstétrica	»	Vacante

ESCUELA DE FARMACIA

Asignaturas	Catedráticos Titulares	Cat. Sustitutos
Botánica sistemática aplicada á la Farmacia.....	Dr. Adolfo Mujica.	Vacante
Química inorgánica aplicada á la Farmacia.....	» Miguel Puiggari.	»
Farmacognosia vejetal y animal.....	» Juan A. Boeri.	Juan A. Dominguez
Quimica orgánica aplicada á la Farmacia.....	» Pedro N. Arata.	Vacante
Farmacia galénica (Técnica farmacéutica).....	» J. Manuel Irizar.	»
Higiene.....	» Ricardo Schatz.	»
Química analítica toxicológica.	» Atanasio Quiroga.	»
Ensayo y determinación de drogas.....	» J. Manuel Irizar.	»

ESCUELA DE PARTERAS

Asignaturas	Catedráticos Titulares	Cat. Sustitutos
Parto fisiológico y clínica obstétrica..... / Parto distócico y clínica obstétrica.....	Dr. Juan R. Fernández.	Vacante

ESCUELA DE ODONTOLOGÍA

Asignaturas	Catedráticos Titulares	Cat. Sustitutos
Anatomía, fisiología, patología.	Dr. León Pereira.	Vacante
Cirugía protética, higiene, materia médica y terapéutica dentaria, medicina legal.....	» Nicasio Etchepareborda.	Vacante

PADRINO DE TESIS

ACADÉMICO HONORARIO

Doctor Telémaco Susini

A la memoria

de mis Padres

A mis hermanos

Señores Académicos:

Señores Profesores:

La última palabra del estudiante, la postrer prueba de competencia, vengo á presentaros para despedirme agradecido de estas aulas, en las cuales, las lecciones de los maestros, son otros tantos focos de luz y ciencia, que he tratado de aprovechar lo más posible.

Juzgadla con benevolencia, pues es la obra de poco tiempo y de menor preparación.

Mi larga estadía en los Laboratorios, me han hecho escoger este tema, para presentar mi prueba final. Son muchos los tópicos que podía haber tratado, pero me he dirigido á este, siguiendo los consejos de mi maestro el doctor José Badía, á

quien hago en este momento, pública mi manifestación del más profundo agradecimiento, por sus atenciones como Jefe y amigo.

Mi gratitud la hago extensiva al doctor Mario Acevedo y á todos mis compañeros de Laboratorio.

Al doctor Susini distinguido Académico, que me hace el honor de acompañarme en este acto, mi más sincero agradecimiento.

Importancia de este estudio

La bacteriología no se limita á buscar los gérmenes patógenos sobre el cuerpo humano; esa es una faz tan solo del complicado problema; hay que buscar los infinitamente pequeños en sus guaridas; seguirlos en la superficie del globo; sobre las plantas, el agua y la tierra: En una palabra, no basta conocer algunas especies; hay que hacer su estadística, sus repartos geográficos y geológicos y conocer cuáles de ellos desempeñan un papel útil ó perjudicial al hombre ó á sus elementos de nutrición.

La tierra presenta por eso, una importancia excepcional para saber si en ella existen gérmenes, cuales son y cual es el reparto en sus diferentes capas.

Es ese un estudio prolongado; como se verá cuando hablemos de la técnica empleada, cada

examen bacteriológico se presenta rodeado de una serie de dificultades por lo innumerable de los detalles en que es necesario estar empapado, para poder hacer de una manera regular y seria estas investigaciones.

No se reduce hoy, en manera alguna, el estudio bacteriológico al examen microscópico de las muestras de tierra aisladas de un cementerio, y si algún sabio de entonces, quiso hallar el bacterio de la fiebre amarilla por ese procedimiento, solo se puede disculpar por lo insuficiente de los conocimientos que se poseían en esa época.

Las exigencias son hoy mucho mayores; cada investigador debe estar bien al corriente de todos los detalles necesarios y someter sus resultados al control más severo, para poder hacer afirmaciones que tengan valor real.

Es por eso, que nosotros emprendemos este estudio tan solo, de una manera parcial diremos; no es posible realizar estudios completos en esta rama, sin que se disponga para ello, de un tiempo considerable y de un material de experimentación muy completo.

Si nosotros hemos limitado el análisis al examen de los aerobios, es porque asi, plantamos el primer jalon de estudios posteriores, que nos permitan for-

mular conclusiones á que por ahora, con el escaso tiempo disponible, no hemos podido llegar.

El camino de las investigaciones, está ahora muy dividido; cada bacterio trae consigo, una serie de problemas interesantes y que no es posible limitar al estudio de sus colonias en los medios líquidos y sólidos.

El averiguar su sitio de origen, las condiciones más favorables para su conservación y reproducción, es mucho más fácil y rápido, que el conocimiento de sus propiedades químicas, diremos así.

Las funciones de asimilación, de excreción, son estudiadas hoy en día por los químicos bacteriologistas y de ellas se han podido deducir, consecuencias muy prácticas para la agricultura y muchas otras ramas de la industria humana.

Como uno de los puntos estudiados y más interesantes, hemos dedicado algunas líneas en nuestra tesis, al estudio aun imperfecto de los bacterios nitrificantes.

No puede haber nada más interesante, que el conocimiento de esos minúsculos seres colocados por Winogradsky, en la escala intermedia de las monadinas.

Todos esos puntos en que no hemos querido extendernos, los hemos anotado tan solo, como una

introducción á nuestros hechos de observación, los primeros en su género hechos entre nosotros y que serán completados más adelante, cuando el tiempo nos permita continuar, con los demás puntos á investigar.

Bacterios del suelo en general

Puede en verdad decirse con Duclaux, que todos los bacterios deben tener su cuna de orígen, en el suelo y que lo que debe estudiarse es, la distribución que tienen en él, las diferentes especies.

Ya provengan de los animales ó vegetales, ya de las aguas, etc., los bacterios llegan al suelo y tienen suerte distinta, según una multitud de factores que pasaremos en revista.

Al caer en la superficie, se comportan de una manera distinta, según la clase de gérmen, el terreno en que caen y el vehículo que llevan.

Generalmente, van en suspensión, en algún líquido y son las cualidades filtrantes de la tierra, las que detienen su paso progresivo, hácia la profundidad.

Estas cualidades filtrantes, han sido interpretadas de diferente manera y su existencia indiscutible, no puede ser atribuida en manera alguna,

al tamaño de los poros terrestres, que deben atravesar, sinó más bien, á una atracción que ejercerían las partículas terrestres sobre los gérmenes en suspensión. Esa detención en el camino, se atribuye exclusivamente á una acción física.

Se observa también, que las tierras con poros mayores, que dejan pasar con rapidez los líquidos y que están por consiguiente, menos tiempo en contacto con ellos, traen una retención menor de los gérmenes.

Serían las tierras con poros más pequeños, en las cuales el agua pasa más despacio, lo que permite por consiguiente, un contacto más prolongado de las partículas en suspensión con la tierra que la rodea, las que detienen mejor los gérmenes.

Es de esos conocimientos, de los que tanto se ha aprovechado la Higiene, para la construcción de aparatos filtros, destinados á la depuración mecánica del agua.

Puede ocurrir, que los gérmenes no sean depositados en la superficie, sino, que medios artificiales, los hayan hecho ponerse en contacto con capas más profundas del suelo.

Ello ocurre, cuando se entierra por ejemplo, un cadáver á una cierta profundidad.

Si el cadáver contiene gérmenes patógenos, in-

teresa saber, si dichos gérmenes son detenidos allí ó si son transportados hácia otra parte.

Los estudios primitivos de Pasteur, que conseguía infectar animales, haciéndoles pacer vegetales desarrollados sobre una fosa, donde había sido enterrado un animal carbuncloso, son de resultado positivo y permiten afirmar, que dicho transporte existe.

El mecanismo, por el cual se efectúa, ha sido discutido y si algunos creen con Pasteur que los vermes arrastran del fondo á la superficie los bacilos, en cambio, otros han obtenido muchos resultados negativos, controlando esas experiencias.

Creemos, que no hay motivo, para negar la posibilidad de dicho arrastre y dada la proligidad, con que se han hecho algunas experiencias positivas, se puede decir, que el arrastre mecánico del fondo á la superficie, es un hecho averiguado.

Interesante es, á la par de lo anterior, el saber si los gérmenes depositados en las letrinas, tienen una propagación hácia las partes laterales.

Aquí indudablemente, nos encontramos con el mismo problema de la filtración y dado que dichos depósitos de gérmenes se encuentren antes de llegar á la capa de agua, no es posible la filtración á través de las paredes más allá de una cierta

distancia, que veremos cual es, cuando tratemos este punto.

Cuando se llega á la capa de agua, las probalidades de un transporte, aumenta en algo.

Sin embargo, la capa de agua no es, como podría creerse, una capa contínua en la cual, el agua circula como lo hace en la superficie.

Es un sistema lacunar de cavidades anastomosadas entre sí y que afectan una forma de criptas, anfractuosidades comunicando entre si, por espacios de tamaño variable, muy pequeños casi siempre.

De manera que, aún en ese caso, el contacto de los gérmenes con la tierra, es constante y prolongado. Aumentan las probabilidades de un arrastre hasta un límite mayor, pero la práctica ha determinado que, algunos metros de tierra detienen toda infección por esta vía.

La vida de los gérmenes depositados en el suelo, también depende de la calidad de los materiales que encuentran allí y que pueden ó no, ser aptos para su nutrición.

Las materias orgánicas que, son llevadas al suelo y arrastradas por los líquidos á la profundidad,—y ya hemos dicho, que esta es mayor ó menor, según la constitución del terreno,—pueden ser de natu-

raleza distinta, albuminoidea, hidrocarburada, etc.

Las descomposiciones sucesivas, que experimentan bajo la acción de los bacterios, que pueden atacarlos en ese estado primitivo; hace que queden después, bajo otras formas más simples, donde á su vez otros gérmenes menos exigentes en sus necesidades, los descomponen nuevamente y por fin los reducen á un último estado: gaseoso en muchos casos, mineral en otros.

Aquellos gérmenes que requieren poca substancia nutritiva, que pueden hacerse germinar *in vitro* en agua destilada ó en medios puramente minerales, es natural que progresen en cualquier medio, con tal de tener á su disposición, las condiciones de calor y humedad que les son necesarios.

No ocurre lo mismo, con los gérmenes que requieren para hacerlos permanecer y reproducir, de complejos medios de cultivo, de aquellos que hacen decir á un bacteriologista distinguido: que si la humanidad pretendiera vivir con las exigencias alimenticias de estos gérmenes, le sería imposible.

La temperatura que reina en el suelo, es también un factor muy importante, que hace predominar el desarrollo de algunas especies, con detrimento de otras.

Las experiencias de Adametz operando sobre

mucedineas, presentan de una manera clara la importancia de las variaciones térmicas, como agente que puede hacer variar de una manera notable el desarrollo proporcional de diferentes especies.

Sembrando en cantidad más ó menos iguales, veía que á menos de 12°, las mucedineas eran rechazadas por el penicillum, en cultivos sólidos ó líquidos.

A la temperatura de 20 á 25°, sucedía lo inverso.

También pudo comprobar lo que anotamos más arriba, el valor de la composición química del medio. como medio de explicarse la predominancia de un gérmen sobre otro.

Si los medios que empleaba para hacerlos fructificar, variaban, si empleaba en lugar de caldo, la gelatina peptona, que es muy apta para el desarrollo del mucor; se retardaba el desarrollo del penicillum, aún á la temperatura de 15°.

Las descomposiciones que estos microorganismos producen, como último término de destrucción de las materias orgánicas, traen consigo, entre otros productos, el desarrollo de una cantidad de gases, constituidos casi siempre por anhidrido carbónico.

Este cuerpo gaseoso, acumulándose por su den-

sidad elevada y por la poca circulación en las mallas y anastomosis irregulares de la tierra; produce cambios en los medios de vida, que tienen mucha importancia.

Si en las capas más superiores, la renovación del oxígeno es más constante y posible, por la proximidad del aire atmosférico, ya no ocurre lo mismo, cuando aumenta la profundidad y disminuyen las posibilidades de una renovación y remoción de los gases acumulados.

A ese factor, le dan mucha importancia diversos observadores, los cuales sostienen, que los análisis bacteriológicos de la tierra, deben llevarse sobre las especies aerobias y anaerobias.

La acción de los anaerobios, se efectua de una manera constante, en aquellas criptas saturadas de gas anhidrido carbónico, donde no pueden prosperar los gérmenes aerobios, que quedan pues, limitados á las capas mas superficiales.

Los gérmenes aerobios depositados en la profundidad y que no pueden reproducirse por la falta del vector oxígeno, pueden revivir cuando se los hace resurgir á la superficie. Es por ese mecanismo, que se ha explicado ciertas epidemias de fiebre tifoidea, consecutivas á escavaciones y remociones de tierra.

Muchos bacterios aerobios, disponen también, de formas de resistencia (esporos), que les permiten soportar, condiciones de vida desfavorables y se reproducen, cuando el medio se ha hecho, otra vez, apto para su desarrollo.

Es en el interior de la tierra, que tiene lugar el fenómeno de la

Nitrificación

La fijación de los compuestos orgánicos solubles, en los tejidos de los organismos vejetales y animales, sustrae momentáneamente de la tierra materiales que, para seguir otra vez el ciclo evolutivo, deben ser transformados en cuerpos más simples.

El estudio de todas estas faces de transformación de los cuerpos orgánicos é inorgánicos de la tierra, tiene mucha importancia en Higiene y ha arrojado mucha luz, para conocer las modificaciones útiles á la Agricultura, en la composición de los suelos.

En estos últimos años, se ha investigado por muchos observadores, de una manera muy minuciosa, el mecanismo como se produce la nitrificación en el suelo.

Los prolijos estudios de Winogradsky, hacen ver, como pudo llegar, por una série de experiencias,

á precisar la acción nitrificante de un micro-organismo, aislado y cultivado por él.

Los medios de cultivo que emplea, para obtener el desarrollo é investigar su acción nitrificante, no necesitan tener materia orgánica y para probarlo el autor, ha hecho experiencias minuciosas, que le permiten afirmar, que el Nitromona, no precisa para transformar las sales amoniacales, del menor rastro de materia orgánica.

Es un microorganismo descripto por él, de la manera siguiente:

"La forma de sus células es lo más amenudo la de un elipsoide más á menos alargado, aproximándose á la de una esfera, los más jóvenes—Las dimensiones son relativamente pequeñas. El pequeño diámetro, es casi constante y no pasa de 0. 9 á 1. 0 micromilímetro; su longitud varía, entre 1, 1 y 1, 8 micromilímetro.

Los que son más largos muestran ya el extrangulamiento, que precede á la división. Algunas veces, entre estas células ovales, se tienen otras en forma de huso con puntas obtusas; rara vez numerosos, pero también, poco frecuentemente, se les encuentra, como forma dominante y aun exclusiva. No hay duda alguna, que pertenecen al mismo microorganismo.

Las células, casi siempre inmóviles, entran algunas veces en movimiento. Todas son probablemente, capaces de ello en ciertas condiciones, pero no se encuentran generalmente, sino pocas móviles. Bruscamente sobrevienen, períodos cortos de movilidad general; el líquido se enturbia y hormiguea de células, que se mueven rápidamente en todas direcciones.

Al día siguiente, todo está en reposo. Winogradsky propone clasificar este microorganismo, entre las Monadinas de Butschli. En los tubos de cultivos usados y que tienen en su fondo cristales de carbonatos térreos, se lo ve desarrollarse, bajo la forma de masas gelatinosas, que engloban los cristales y al cabo de algun tiempo los disuelven. Cuando algunos de estos cristales, pueden ser observados con asiduidad, se nota, que se hacen poco á poco transparentes, y que son reemplazados, por una colonia de forma y tamaño idénticos, á los cristales desaparecidos. Es este Nitromona, el que parece realizar en la tierra, el papel de nitrificar el amoniaco disuelto en el suelo; y los primeros trabajos hechos por Schloesing y Muntz, en los que habían deducido la existencia de microbios nitrificantes, han recibido después de muchas obser-

vaciones hechas en todas partes, una plena confirmación con los trabajos que hemos citado.

Como no entra en la índole de nuestra tesis, el hacer un estudio detenido de estas cuestiones, solo hemos querido anotar simplemente, este problema como uno de los tantos y tan interesantes, que presenta el estudio bacteriológico del suelo.

Hemos dividido nuestro trabajo en varias partes, en los cuales, entramos en el detalle minucioso de la técnica empleada.

Tal vez, parezca extensa esta parte descriptiva de las operaciones efectuadas, pues es idéntica á los métodos usados, en las demás investigaciones bacteriológicas; pero, hemos creído conveniente hacerlo así, para que si se desean controlar nuestras cifras, se pueda apreciar en todos sus detalles los procedimientos usados por nosotros.

Son asimismo, los primeros trabajos de esta índole, emprendidos entre nosotros y sirva esto de disculpa, á lo largo y árido de los capítulos siguientes.

En el primero, detallamos los distintos modelos de perforadores, que hemos empleado, con todos los inconvenientes teóricos y prácticos que los hemos encontrado; en el segundo, de la manera de esterilizar nuestros materiales y la composición de los medios de cultivo.

Por fin, hacemos un resúmen de los trabajos extranjeros sobre este tema, para terminar con los resultados obtenidos por nosotros.

Perforadores

El primero que empleamos, ha sido el de Nagel,—constaba de 3 piezas: 1 caño exterior, 1 caño interior y 1 llave manija.

El caño exterior, consta de varias piezas. La inferior, es de acero y tiene 2 centímetros de diámetro y 1.50 metro de largo.

En su parte más inferior, está soldado á un barreno en espiral de 30 centímetros de longitud. Sobre dicho barreno y ocupando una parte lateral en el caño, se encuentra una hendidura ó ventana, de 20 centímetros de altura por 1 centímetro de ancho.

La otra pieza del caño, exterior, es un simple caño de acero, de un diámetro igual á la primera pieza y que puede ser articulado con ella.

Tiene por objeto, el aumentar la longitud del aparato, en el caso que las perforaciones sean más

profundas de 1.50 metro, que es el largo de la primera pieza.

El caño exterior, lo mismo que el accesorio que lo alarga; tienen marcado en su superficie, las distancias á contar, desde la ventana inferior, en su parte media.

Estas medidas tienen por objeto, saber la profundidad, á la cual se toma la muestra de tierra.

El caño interíor, es de un calibre menor que el descripto y su extremidad inferior está cerrada.

Se desliza por el interior del caño periférico y sobresale ligeramente en la parte superior.

Tiene también, una ventana dispuesta á la misma altura y de las mismas dimensiones, que hemos anotado para el caño exterior.

También, tiene un caño accesorio, que se puede articular, cuando se desea una perforación á mayor profundidad.

Articulando entre si las piezas accesorias de los dos tubos, hemos podido llegar á la profundidad de 3 metros.

Llave manija—Es de forma alargada, perpendicular al eje del perforador, con una abertura circular en su parte media, la cual se adapta al tubo exterior, pudiendo ser apretado por un tornillo de presión.

Sus mangos laterales, son redondeados y tienen 30 centímetros de largo.

El caño interior, puede girar dentro del exterior, moviéndolo en la extremidad superior, con la misma manija y para ello, solo hay que adosar al tubo interior, otro tubito que lo hace de calibre igual al exterior.

Inconvenientes de este perforador—La hendidura es pequeña, su carencia de relieve, hace muy difícil la penetración de la tierra, en su interior.

La manija, debe ser apretada mucho, para que no gire y esto hace perder á los caños, su forma primitiva, lo cual impide la extracción del caño interior.

Los caños, son de poca resistencia y se doblan con facilidad, al penetrar en cualquier terreno.

Estos inconvenientes encontrados, nos sugirieron la siguiente modificación:

Para aumentar la cantidad de tierra, hicimos agregar al caño exterior, en su primera pieza, una aleta de bronce, de borde cortante y situada en el borde de la ventana.

Esta aleta tiene, un espesor de 5 milímetros en su base de implantación, desde la cual disminuye gradualmente, afilándose.

Su dirección oblícua al eje del caño, permite

girar el aparato de derecha á izquierda, sin encontrar resistencia, mientras que, girando en sentido inverso, la tierra penetra en el interior del tubo, debido á la excavación que efectúa la aleta.

Este perforador modificado, lo mismo que el primitivo, eran empleados por nosotros, no extrayendo el tubo interno y dejando sumerjido el exterior, sino que sacábamos ambos tubos juntamente en cada muestra de tierra.

El porqué de esta modificación es el siguiente:

Si bien el perforador estaba bien esterilizado para la primer muestra, las subsiguientes encontraban ya al interior del tubo, recorrido por una muestra de tierra, procedente de las primeras capas y que fatalmente lo había infectado.

Sacando ambos tubos, suprimíamos este inconveniente y podíamos esterilizar el caño, con la técnica que describimos más adelante.

Aun así no hemos suprimido las probabilidades de infección en las muestras extraídas.

Es fácil comprender el porqué. El barreno, la aleta y el tubo mismo, arrastran á la profundidad partículas de la tierra que van encontrando á su paso. Estas partículas quedan en la tierra que circunda la aleta, de modo que esta al hacer penetrar en el interior del caño una cierta cantidad

de tierra, hace también entrar la muestra infectada por ella y por el barreno que la ha precedido.

Todos estos inconvenientes han sido tenidos en cuenta por nosotros, para hacer un nuevo perforador, en cuyos detalles entramos ahora.

Nuevo perforador (1)

Como con las modificaciones que hicimos no habíamos salvado los otros inconvenientes del aparato, consistentes en su poca solidez y lo fácil que se deformaba, nos resolvimos á ensayar otro perforador y es el siguiente:

Se compone de 3 caños de fierro galvanizado, 1 mecha barreno de acero, 1 extractor de acero y 1 llave.

Los Caños no presentan nada de particular, son simples tubos de fierro galvanizado de 2 $^1/_2$ centímetros de diámetro y de 2 metros de largo cada uno, uniéndose entre sí, por medio de roscas del mismo metal. Son sólidos y no pueden doblarse á pesar de las presiones que se efectúen sobre ellos. Estos caños están numerados con el fin de que las marcas de las distancias en que están divididos, queden siempre en la misma situación.

---

(1) Este aparato fué construído por la casa de los ingenieros mecánicos Sres. Spinola y Noceti.

La mecha barreno

Tiene por fin sacar tierra y dejar un conducto abierto que permita el paso posterior al extractor.

Está formada por una pieza de acero de 40 centímetros de largo por 40 milímetros de diámetro en su parte inferior y 25 milímetros en su parte superior.

El segmento superior; de 10 centímetros de largo tan solo, macizo, de menor diámetro lleva un paso de tornillo que sirve para articularlo con los caños.

El segmento inferior de 30 centímetros de largo, está constituído por una semi-circunferencia hueca, de bordes afilados, pulida en sus dos caras interna y externa.

En la parte inferior de este segmento, lleva hacia un lado un espolón afilado y en el otro una paleta, haciendo un ángulo obtuso con la cara interna del barreno.

El extractor

Es también de acero y está formado por 2 piezas que pueden separarse y que juxtapuestas forman un tubo hueco de 28 centímetros de largo.

Lo mismo que la anterior se compone de dos segmentos.

El segmento superior de 6 centímetros de largo es idéntico al similar del barreno, diferenciándose en que está dividido por la mitad en dos partes, que se pueden justaponer y para darle mayor estabilidad, lleva dos topes en uno de ellos, que se encajan en dos orificios simétricos de la otra mitad.

El paso de tornillo es de mucho mayor largo, lo que permite deslizar una tuerca que adosa mejor las dos mitades del extractor.

El segmento inferior, de 22 centímetros de largo y 3 $^{1}/_{2}$ centímetros de diámetro perfectamente liso en sus dos caras, siendo su parte inferior cortada á bisel con un ángulo de 135 grados y su borde inferior es afilado.

La llave

Mucho más simple que la de los perforadores descriptos anteriormente, permite hacer mayor presión sin deformar los caños.

Son dos barras de hierro que abrazan los caños y que se unen por dos tuercas de presión.

Técnica de extracción con este aparato (1)

Primero, como con los otros perforadores, se saca una muestra de la tierra superficial, la cual es guardada en un tubo rotulado.

---

(1) Recordamos complacidos á nuestro ayudante en todas estas tareas, el aventajado estudiante y ayudante del Laboratorio, señor Salustiano Camet.

Después se articula con el caño número 1, la mecha barreno y se procede á hacerlo penetrar lentamente y siguiendo una dirección perpendicular al suelo.

La mecha barreno por su construcción saca un cilindro compacto de tierra. Esta operación se hace en dos veces para llegar á la altura de 45 centímetros, cuando se quiere extraer tierra á 50 centímetros. Se hace en dos veces, porque la longitud del hueco interior dél barreno es de solo 30 centímetros. Tenemos así una cueva vertical de 45 centímetros de profundidad por 6 $^1/_2$ centímetros de diámetro. En su parte inferior dejamos una capa de 5 centímetros de tierra, con el objeto de no tocar con instrumentos, la tierra que corresponde á los 50 centímetros de la superficie.

Para ello, se articula el extractor con el caño número 1 en el lugar que ocupa la mecha barreno, se lo sumerje en la perforación hecha, y girando lentamente, se lo hace penetrar unos 10 centímetros.

Se le retira á la superficie; se desarticula el extractor del caño y se tiene así en el interior del aparato al abrirse en dos, una muestra de tierra, que algunas veces es compacta y en forma de cilindro y en otras de tierra desmenuzada.

En este último caso, se pone en tubos la tierra, por medio de dos espátulas esterilizadas *ad-hoc* en el soplete, sacando la muestra á unos 5 centímetros á contar de la parte superior de la tierra extraída.

En caso que la muestra revista la forma de un cilindro compacto, se lo intuba en esa forma, para recién sacar en el Laboratorio el fragmento correspondiente, á la profundidad deseada.

De esta manera, no transcurre tiempo alguno, entre la extracción de la tierra y las siembras en los medios nutritivos.

Para las distintas profundidades superiores á la de 50 centímetros se procede de idéntica manera, habiendo llegado en 2 horas, á perforar hasta 5 metros de profundidad, sin que el aparato se haya resentido en lo más mínimo.

Comparación y ventajas de este perforador

Al describir los otros perforadores, ya anotamos las maneras como se podían infectar, las muestras de tierra extraida.

Recordemos que la aleta que hace entrar en los caños, la tierra á examinar, recorre siempre las capas superiores, y arrastra consigo los gérmenes que encuentra á su paso.

Esas probabilidades desaparecen, con el nuevo modelo de perforador. Siempre queda una cueva vertical, por donde entra el extractor que es de menor diámetro que ella.

Además la muestra queda siempre cubierta por una capa de tierra y es extraida en la misma situación y relaciones que tiene en el interior del suelo.

Así se suprimen todos los contactos con los instrumentos, antes de salir á la superficie y es solo allí ó en el Laboratorio, que entra en contacto con pinzas y espátulas esterilizadas.

El nuevo modelo de perforador, no solo da mayor seguridad en las operaciones garantizando la asepsia de la siembra, sino que es tambien más sólido y un manejo más rápido.

La perforación es mucho más segura, por que la estructura de los caños no permite se doblen nunca y no teniendo caño interno no hay esa rémora, que hemos observado con suma frecuencia en los otros modelos.

La mecha es de gran poder perforante ; habiendo llegado á atravesar sin desperfecto alguno, una espesa capa de ladrillos.

Esterilización de los perforadores y materiales empleados

Los perforadores primeramente empleados, eran esterilizados en el terreno mismo, donde se efectuaba la perforación, y para ello hemos empleado el calor seco.

Se utiliza con este fin, una lámpara soplete al alcohol, que produce una alta temperatura y es de un manejo muy cómodo.

Para efectuar la esterilización, se hacen coincidir las ventanas inferiores de ambos tubos y se hace actuar la llama del soplete simultáneamente sobre ambas cavidades comunicantes.

Acto contínuo se cierra la comunicación al exterior con el tubo interno, haciéndolo girar y suprimiendo por consiguiente el paralelismo de las ventanas.

Antes de proceder á la perforación, se esperan algunos minutos, lo cual basta para que se enfrien lo bastante los tubos metálicos.

Como hemos visto al describir el perforador que hemos adoptado nosotros, no es necesario ya esterilizar este instrumento.

Las pinzas, espátulas, tubos de vidrio para llevar muestras de tierra, son esterilizados también al calor seco, utilizando una estufa seca de Pasteur.

Daremos la descripción de una perforación con los primitivos perforadores y las manipulaciones consecutivas.

Una vez en el terreno, se toma una muestra primera de la superficie del suelo.

Se hace penetrar en el suelo el perforador que, como hemos dicho, tiene marcas exteriores que indican las diversas profundidades á que llega.

Llegado á la altura que se desea, se hace girar el tubo interior de modo que las dos ventanas coincidan, para lo cual en la parte superior de ambos tubos, hay ranuras que indican la situación respectiva de los orificios que están sumergidos y entonces se hace girar todo el perforador en sentido inverso.

Con esta maniobra se llena de tierra el tubo interior, se la lleva á la superficie haciendo desaparecer el paralelismo de las ventanas y retirando el perforador.

La muestra que se obtiene, se toma con pinzas y se coloca en tubo rotulado.

Se esteriliza nuevamente el perforador y se repite la operación á mayor profundidad.

Adoptamos ese método pues suprimíamos así en algo las probabilidades de infección como hemos visto al detallar los perforadores.

Como hemos anotado también, con el modelo de nuestra invención, se suprime toda esterilización pues el cilindro que se extrae por ese método, no tiene contaminación alguna en su parte interna.

Composición de los medios nutritivos empleados

Ya digimos, que solo hemos deseado en este trabajo, hacer un examen de los bacterios aerobios y es por eso que hemos empleado los medios de cultivo usado comunmente para estas investigaciones.

Fórmula de la gelatina empleada

Agua de carne.....1000 g^s
Cloruro de sodio..... 5 "
Peptona Witte..... 20 "

Después de calentar, se agrega gelatina Oro 200 g^s. Alcalinizar debilmente, calentar, clarificar con clara de huevo, filtrar en caliente y esterilizar por el método discontínuo.

También hemos empleado gelatina de la misma fórmula y á más Agar en la proporción de $^1/_3$.

Este último medio empleado ha sido con el objeto de impedir la rápida liquefacción, que suele observarse con la gelatina sola.

Así mismo tiene por objeto, facilitar el estudio á una temperatura mayor de 15° con lo cual se favorece el desarrollo de las colonias bacterianas.

Técnica para el examen de las muestras de tierra

Una vez terminada la extracción de la tierra, procedamos enseguida á hacer las pesadas, diluciones y siembras correspondientes, para no dar tiempo á que se infecten con los microorganismos del aire ambiente.

Estas manipulaciones han sido siempre efectuadas alrededor de 1 hora á hora y media de la extracción, debido á las distancias del terreno de experiencia, al Laboratorio.

Hemos tomado como unidad de medida para calcular la cantidad de microorganismos, al gramo, habiendo podido tomar el c. c. como lo indica Fraenkel, pero como veremos la medida con una cucharita de platino, no es tan segura como la balanza.

Para efectuar las pesadas, se tiene de antemano un vidrio de reloj esterilizado á la llama, lo mismo que la espátula. En las pesadas siempre hemos tomado pequeñas cantidades, como ser un gramo; otras veces 0.20 centígramos y hasta 0.10 centígramos. Después de pesada, la tierra es colocada en un tubo de ensayo esterilizado, de capacidad de 50 c. c. y de paredes resistentes; una vez efectuadas todas las pesadas, se procede á las diluciones; para ello

primero diluimos la tierra en 10 ó en 20 c. c. de agua esterilizada si se ha tomado de un gramo de tierra ; teniendo entonces una solución al décimo ó vigésimo ; después por medio de una varilla gruesa de vidrio esterilizada, se tritura finalmente la tierra y se mezcla muy bien con el agua. De esta primera dilución se toma un c. c. y se le agrega un c. c. de agua esterilizada, teniendo de este modo una dilución al $^1/_2$ de la dilución madre. De esta dilución al 1/2 se toma nuevamente después de estar bien mezclada 1 c. c. y se le agrega 1 c. c. de agua esterilizada y asi obtendremos una dilución al $^1/_4$ y asi se siguen haciendo diluciones, hasta obtener diluciones al $^1/_8$ $^1/_{16}$ $^1/_{32}$ $^1/_{64}$ $^1/_{128}$.

Para todas estas operaciones, se han empleado pipetas esterilizadas cada vez que se efectuaba una nueva dilución, aunque fuera de la misma muestra de tierra.

De modo que, para un examen de tierra en que se ha llegado hasta 5 metros, tenemos 11 muestras de tierra ; la sacada al nivel del suelo y las de 0, 50 centímetros 1 m. 1.50, 2.00, 2.50, 3.00, 3.50, 4.00, 4.50 y 5 metros, empleándose en cada una de ellas, 8 diluciones que por 11 muestras hacen un total de 88 diluciones.

Una vez efectuado esto, se procede á la siembra de las diluciones en gelatina y tambien en gelati-

na mezclada con un tercio de agar, pues algunas colonias de bacterios liquidan muy pronto la gelatina y también en este medio se puede cultivar á mayor temperatura. Estas siembras se hacen echando un tubo de gelatina liquidado por medio de un debil calor, de manera que llegue al grado mínimo, suficiente para mantenerla en estado líquido, en el tubo que contiene el c. c. de agua de las diluciones ya efectuadas y después se vuelca en una placa de Petri ó en placas de Petruschky. Se colocan las placas en el aparato de Koch, para solidificar la gelatina y después se dejan á una temperatura que oscila entre 14 y 20° Las placas quedan al resguardo de infecciones poniéndolas en una cámara con tapa de vidrio, sumergida en una solución de bicloruro de mercurio.

En este estado, se deja durante dos ó tres días y después se numeran las colonias que contienen cada placa; estas numeraciones se efectúan dos ó tres días seguidos y después el número de colonias encontradas se multiplica por el título de la dilución y el producto por diez ó veinte que es la dilución primera.

Cantidad de bacterios en el suelo

Cifras publicadas por diferentes autores

Antes de presentar nuestros resultados, séanos permitido anotar las cifras á que han llegado los observadores, cuyos trabajos hemos podido leer.

En lo que se refiere á la capa de tierra superficial, hay que remontarse á los trabajos de Miquel de quien son las mejores observaciones al respecto. Él encontró 800.000 á 1.000.000 de gérmenes por gramo de tierra desecada á 30° durante 48 horas.

Los análisis se refieren á varias muestras de humus sacados del parque de Montsouris y de Gennevilliers.

Encontró así mismo 1.300.000 en la calle de Rennes y 2.100.000 en la calle Monge, procediendo con las capas de tierra superficial.

Citaremos algunos otros análisis de la misma capa.

Bacterios aerobios por gramo de tierra

Colina arenosa, árida, cerca de Turín (Maggiora).....	1.600
Suelo próximo á un albañal (Duclaux).	64.000
Humus en Postdam (Fraenkel).....	100.000
Jardín del Instituto Agronómico de Leipzig (Adametz)	500.000
Tierra irrigada con agua de cloaca (Miquel).....	870.000
Barro de las calles de Turín (Maggiora).....	78.000.000

En lo que se refiere á exámenes practicados en el interior del suelo, vamos á detallar la técnica seguida por Fraenkel.

Método de Fraenkel—Recoge la muestra con un perforador muy semejante al primero que hemos descripto.

No pesa la tierra, sino que la mide con una cucharita de platino, de bordes bien limitados y que llena á ras de los bordes, contiene más ó menos $/_{50}$ de c. c.; no diluye la tierra en agua sino que la lleva así en substancia á los medios nutritivos, lo cual tiene un inconveniente serio y

es que muchos gérmenes quedan adheridos á las partículas de tierra.

El método Benmer, que consiste en diluir la muestra de tierra en 100 ó 1000 c. c., agitar y examinar una ó varias gotas, es pasible del mismo reproche, pues no obstante que el agua arrastra casi todos los gérmenes, sin embargo deja algunos entre las partículas.

Lo mismo diremos del método Emmerich que consiste en lavar con agua esterilizada, la muestra de tierra contenida en un tamis de metal. Renovando el agua de lavaje, se limpia seguramente mejor las partículas de tierra, pero no se puede esperar limpiarlas completamente y es ese el resultado que se debiera alcanzar.

Como hemos visto, nuestro procedimiento tiene algo del de cada uno de estos autores.

Damos aquí á continuación los resultados de Fraenkel:

Suelo de los alrededores de Postdam (1886-1887)—Fraenkel

PROFUNDIDAD	Número de gérmenes por centimetro cúbico								
	21 Abril	27 Mayo	12 Junio	9 Julio	14 Agosto	4 Septiembre	20 Octubre	3 Noviembre	16 Marzo
Superficie	»	150.000	110.000	»	300.000	95.000	130.000	55.000	80.000
0m 50	70.000	200.000	90.000	»	240.000	65.000	100.000	75.000	85.000
0m 75	25.000	»	»	»	40.200	3.000	»	8.000	»
1m 00	1.000	2.000	2.000	4 300	80.000	600	40.000	7.000	3.000
1m 50	200	15.000	2.000	400	500	700	600	200	300
2m 00	»	2.000	600	300	400	»	700	100	200
2m 50	250	500	700	»	100	»	150	»	1.500
3m 00	»	3.000	100	»	»	150	»	1.500	100
3m 50	»	»	800	»	»	100	1.400	50	700
4m 00	»	»	150	300	»	»	600	»	»

Suelos de diversos puntos habitados de Berlin (1885 - 1886)

PROFUNDIDAD	Número de gérmenes por centímetro cúbico							
	20 Julio	24 Julio	7 Agosto	8 Agosto	1º Noviembre	6 Abril	11 Noviembre	Jardin
Superficie	8.000	350.000	160.000	»	300.000	»	»	450.000
0m 50	6.500	50 000	40.000	«	»	»	»	300.000
1m 00	45.000	800	10.000	35.000	1.000	100.000	80.000	150.000
1m 50	4.500	»	»	50.000	2.000	180.000	20.000	80.000
2m 00	»	750	6.000	15 000	3.500	65.000	49.000	200.000
2m 50	»	»	»	20.000	300	470.000	650	700
3m 00	»	»	300	500	1.000	34.000	600	100
3m 50	»	»	»	150	750	»	3.000	»
4m 00	»	»	»	»	»	»	900	»

A propósito de estos cuadros, Duclaux llega á las siguientes conclusiones:

1° La población microbiana va decreciendo en todas partes á medida que se profundiza, pero el decrecimiento es irregular.

2° A algunos meses de distancia, la misma capa puede estar poblada ó estéril.

3° El invierno trae una disminución de los gérmenes de la superficie.

4° El invierno no tiene acción sobre las capas profundas.

5° Las diferencias no son grandes entre suelos muy distintos por el modo de cultivo y la cantidad de materia orgánica que reciben.

Existen otros análisis más y citamos en seguida los resultados de algunos.

Kramer—1890.

Suelo arcilloso bastante cargado de humus

A 0.20 de profundidad	.....	650.000	gérmenes	por	gr.
» 0.50 » »	.....	500.000	»	»	»
» 0.70 » »	.....	276.000	»	»	»
» 1 m. » »	.....	36.000	»	»	»
» 1^{m}20 » »	.....	5.600	»	»	»
» 1^{m}40 » »	.....	700	»	»	»
» 1^{m}65 » »	.....	algunos	»	»	»

Reimers—1889.

Tierra á la superficie de un campo.. 2.564.000 por c. c.
» á 2 m. de profundidad (arcilla).. 23.100 » »
» » 3 ½ » » (pedregullo). 6.170 » »
» » 4 ½ » » (arena).. 1.580 » »
» » 6 » » (greda).. 0 » »

Nosotros hemos procedido á sembrar las muestras acto continuo de sacarlas teniendo en cuenta la multiplicación de los bacterios primero y su disminución después, como se verá por el cuadro siguiente:

" Número de colonias encontradas en $^1/_{50}$ de c. c. de arena blanca de los alrededores de Postdam examinadas en el momento de la extracción y á diferentes intérvalos después.

PROFUNDIDAD	12 Junio	14 Junio	16 Junio	20 Julio	5 Octubre
0	2.200	2.800	2.000	1.650	1.320
0m 50	1.630	1.830	1.600	1.100	530
1m	40	160	14.000	1.300	580
1m 50	40	65.000	190	150	120
2m	12	3.200	1.680	1.200	12
2m 50	10	24	180	0	0
3m	2	0	0	0	0
3m 50	16	4.000	320	0	0
4m	3	23.000	18.000	380	0
4m 50	4	1.630	12.000	1.320	13

Como conclusión de estas observaciones deduce Duclaux que hay que apresurarse á sembrar la muestra extraida y recogerla, cambiando lo menos posible las condiciones á su alrededor.

Lo hemos tenido muy en cuenta y creemos que el perforador adoptado por nosotros aventaja al de Fraenkel en esta última condición.

Resultados en los exámenes de muestras de tierra efectuados en la Ciudad de Buenos Aires

Hemos tomado como punto de partida en nuestros exámenes, á los cementerios siempre sacando las muestras de tierras en sitios en que se habian enterrado cadáveres, directamente en el suelo y eligiendo como sitio de perforación el mismo medio de la sepultura.

Examen N° 1.

CEMENTERIO DEL NORTE

Muestras sacadas el dia 6 de Septiembre de 1901 con el perforador de Nagel (modificado) dia despejado y de sol, en una sepultura, donde se habia enterrado un cadaver en el año 1864 directamente en el suelo. En este terreno nunca ha sido removida la tierra, haciendo varios años que no tiene plantas, excepto un poco de pasto. El dia anterior á la extracción fué lluvioso, habiendo caído

12,4 m. m. Terreno expuesto al sol por los lados E. y O. Según datos suministrados el cadáver fué enterrado á 1 y $^1/_2$ vara de profundidad. La primer muestra; la de la superficie del suelo, fué extraída á las 2 y 40 de la tarde, momento en que se empezaron las perforaciones, habiendo terminado la última que fué sacada á dos metros de profundidad á las 5,20 p. m.; sacando un total de 5 muestras, las que fueron colocadas en tubos de ensayo esterilizados y rotulados; las muestras primeras de 0.50 y 1 m. fueron escasas, siendo tierra seca; las dos últimas fueron abundantes y de tierra compacta y húmeda. A las 5 y 35 p. m. empezamos nuestro examen, como hemos indicado anteriormente; habiendo ya preparado de antemano todo el material, (agua esterilizada, tubos, placas de Petri y de Petruschky, varillas de vidrio, vidrios de reloj, pipetas, espátulas y gelatina.) Para efectuar todo todo este trabajo fué necesario 2 $^1/_4$ horas, colocando las placas en la heladera que se encontraba á una temperatura de 12° centígrados. El primer dia, el desarrollo fué muy escaso, poniendo entonces las placas á la temperatura ambiente que era de 19°. Al segundo dia, regular desarrollo. El dia 9 ó sea el tercero de la siembra gran desarrollo.

Antes de proceder á la numeración de las colonias colocamos las placas á una temperatura de 10° con el fin de impedir que se liquidase la gelatina con las manipulaciones. El procedimiento para la enumeración es el clásico. Con un microscopio simple colocando en la platina un fondo negro, á fin de hacer resaltar más las colonias, ponemos invertida la placa de Petri y por medio de un cristal cuadriculado colocado encima, que facilita la numeración é impide que el calor desarrollado por el acercamiento de la cara, líquide la gelatina. Una vez terminada la numeración se colocan nuevamente las placas á una baja temperatura y se guardan para una numeración posterior.

Los cuadros adjuntos dan las cifras encontradas á los tres y cinco dias de efectuadas las siembras, En estos dos últimos días han estado á una temperatura de 12°, pués había colonias de bacterios que liquidaban la gelatina y era expuesto á error. En el primer cuadro, solamente en una placa fué liquidada la gelatina, debido á la gran cantidad de microorganismos. En la segunda numeración efectuada dos días después, ya encontramos mayor mayor número de microrganismos y también mayor número de placas liquidadas.

Septiembre 9 de 1901

Profundidades	Control	DILUCIONES			Total DE gérmenes POR gramo de tierra
		1/32	1/64	1/128	
Tierra de la superficie	0	Líq:	1050	656	755.840
» á 0.50 cent.	0	1.300	721	371	450.773
» á 1 m.	0	591	341	197	219.840
» á 1.50	0	—	19	14	15.040
» á 2 m.	0	3	0	0	320

Septiembre 11 de 1901

Profundidades	Control	DILUCIONES			Total DE gérmenes POR gramo de tierra
		1/32	1/64	1/128	
Tierra de la superfiuie	0	—	Líq:	Líq:	—
» á 0.50 cent.	0	Líq:	1860	832	1.127.680
» á 1 m.	0	Líq:	527	276	345.280
» á 1 m. 50	0	—	53	21	30.400
» á 2 m.	0	6	2	3	2.340

La proporción seguida para el cálculo fué la siguiente:

Tomemos, por ejemplo, la muestra de tierra de $0^m 50$ centímetros y tendremos:

$$1.300 \times 32 \times 10 = 416.000$$
$$721 \times 64 \times 10 = 461.440$$
$$371 \times 128 \times 10 = 474.880$$
$$1.352.320 \div 3 = 450.773$$

de donde: 1.300, 721 y 371 son las cantidades de colonias numeradas en las placas; 32, 64 y 128 las diluciones efectuadas y 10 la primer dilución.

Examen N° 2

Cementerio del Norte

Muestras sacadas el día 18 de Septiembre de 1901, con el perforador modificado de Nagel; día despejado y de sol, habiendo pasado 9 días sin lluvia; en un terreno donde se había enterrado directamente en el suelo, á dos metros de profundidad, los muertos de la revolución de 1880. El terreno está expuesto al sol y viento por todos lados. Está cubierto de pasto.

La muestra de la superficie del suelo fué extraída á las 2 p. m. terminando con la última extracción á las 4.50 á la profundidad de tres metros, sacando un total de 7 muestras, las que fueron colocadas en tubos de ensayo y rotuladas. Las primeras muestras, fueron de fácil extracción; pero en las últimas muestras tuvimos que recurrir á sacar los dos caños del perforador juntos, pues era imposible la extracción del interior, debido á haberse arqueado los tubos, por lo resistente del

terreno. La cantidad de tierra extraída como muestra fué mínima, en algunas de ellas solo se pudo sacar al rededor de 1 gramo.

La técnica empleada para las siembras fué igual á la anterior, solamente que la dilución primera fué hecha al 20° en vez de 10°, con el fin de favorecer la numeración.

Al primer dia fué escaso el desarrollo notándose ya gran desarrollo en las placas de las muestras de la superficie. La temperatura á que estuvieron expuestas fué de 14°.

El segundo día fué á mayor temperatura, 19° notándose regular desarrollo de colonias.

El tercer día temperatura 18° gran desarrollo.

Para la numeración de las colonias se procedió del mismo modo que en el examen anterior.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Septiembre 21 de 1901

Profundidades	Control	DILUCIONES 1/32	1/64	1/128	Total de gérmenes POR gramo de tierra
Tierra de la superficie	0	Líq:	4.484	2.409	5·953.280
» » 0 m 50	0	1.132	630	332	793.600
» » 1 m	0	435	282	136	329.380
» » 1 m 50	0	99	67	48	90.660
» » 2 m	0	368	215	129	280 320
» » 2 m 50	0	88	35	23	53.320
» » 3 m	0	Dil. 1/16 96	28	11	31.560

Septiembre 23 de 1901

Profundidades	Control	DILUCIONES 1/32	1/64	1/128	Total de gérmenes POR gramo de tierra
Tierra de la superficie	0	Líq:	Liq:	Líq:	—
» á 0 m 50	0	Líq:	Líq:	Líq:	—
» » 1 m	0	Líq:	Líq:	144	368.640
» » 1 m 50	0	107	78	51	99.620
» » 2 m	0	Líq:	248	Líq:	317.440
» » 2 m 50	0	89	37	26	56.960
» » 3 m	0	Dil. 1/16 97	31	13	34.660

Examen N° 3

Ex Cementerio del Sud

Parque Bernardino Rivadavia

Muestras sacadas el día 15 de octubre de 1901. Día tempestuoso; con el perforador que nosotros hemos adoptado. El sitio elejido para la extracción, fué donde se habían inhumado cadáveres de la epidemia de fiebre amarilla de 1870 y 1871 conservándose aun cadáveres en el interior del suelo. Está rodeado de árboles, plantas y espeso cesped.

Los datos sobre á cual profundidad y sobre el sitio preciso del cadáver, no se nos pudo suministrar debido á la delineación de los jardines del Parque.

La primer muestra fué sacada á las 3 y 10 p. m. y la última á las 6 y 15, consiguiendo un total de 11 muestras y llegando hasta la profundidad de 5 metros, en menos tiempo y con

mucha más facilidad, que para las muestras sacadas con el otro perforador. Todas estas muestras fueron colocadas en tubos esterilizados y rotulados.

Las primeras, por lo poco resistente del bloc de tierra, no se pudieron llevar intactas y fué necesario sacar la muestra, de la parte media. A partir de 1^m 50 los blocs de tierra eran compactos y así se pudieron transportar al Laboratorio, en donde recién en el momento de efectuar la siembra, se sacó la muestra.

Las manipulaciones para las siembras, fueron las mismas que para las anteriores, solamente que la última fué efectuada á la 1 y 20 de la mañana.

La dilución primera fué al vigésimo.

La mayor parte de las placas empleadas fueron las de Petruschky.

Primer día, temperatura 15 grados, poco desarrollo.

Segundo día; temperatura 18 grados, regular desarrollo.

Tercer día temperatura 16 grados, gran desarrollo 3 placas liquidadas.

Damos á continuación los resultados obtenidos:

Octubre 18 de 1901

Profundidades	Control	DILUCIONES 1/32	1/64	1/128	Total de gérmenes POR gramo de tierra
Tierra de la superficie	0	Liq:	Liq:	568	1.454.080
» á 0m50	0	364	164	72	209.060
» á 1m	0	Liq:	74	32	88.320
» á 1m50	0	152	96	67	130.560
» á 2m	0	32	19	12	25.160
» á 2m50	0	17	9	3	10 020
» á 3m	0	6	5	2	5.120
» á 3m50	0	4	5	1	3.840
» á 4m	0	1	0	0	200
» á 4m50	0	0	3	1	2.120
» á 5m	0	29	15	7	18.560

Octubre 19 de 1901

Profundidades	Control	DILUCIONES 1/32	1/64	1/128	Total de gérmenes POR gramo de tierra
Tierra de la superficie	0	Líq:	Líq:	Líq:	—
» á 0m50	0	Líq:	Líq:	Líq:	—
» » 1m	0	Líq:	Líq:	Líq:	—
» » 1m50	0	Líq:	Líq:	Líq:	—
» » 2m	0	Líq:	21	12	28.800
» » 2m50	0	20	10	5	12.800
» » 3m	0	6	5	3	5.960
» » 3m50	0	4	7	3	6.400
» » 4m	0	3	0	1	1.480
» » 4m50	0	0	4	2	3.400
» » 5m	0	Líq:	19	7	21.120

Examen N° 4

Ex Chacarita vieja

Parque del Oeste

Muestras sacadas el dia 25 de octubre de 1901 (día despejado y de sol; habiendo llovido el día anterior 0.25 m. m.) En el terreno se habian enterrado cadáveres en el año 1872, directamente en el suelo; siendo sacados estos en el año 1898. Lo mismo que en el examen anterior, no se pudo precisar el sitio donde se habia efectuado la extracción de los restos humanos.

La profundidad á que se encontraban enterrados, era al rededor de 2 metros.

Terreno cubierto de pasto y con grandes árboles.

La extracción de las muestras fué muy fácil, debido á la práctica que teníamos del aparato; sacamos la primera muestra á las 3 y 35 y la última á las 5 y 40 de la tarde, haciendo un total de 11 muestras, las que fueron colocadas en

sus correspondientes tubos esterilizados rotulados.

La mayor parte de las muestras, dieron blocs compactos, lo que permitió hacer las siembras en el laboratorio, librándose de esa manera lo dificil que es la esterilización de espátulas y pinzas, donde no se está al reparo del viento.

A los tres metros sentimos crujir la mecha barreno y en la extracción sacamos tosca blanca. Lo mismo pasó antes de llegar á los 5 metros.

El barreno no sufrió en lo más mínimo, ni tampoco hubo que efectuarse mayor esfuerzo para seguir las perforaciones.

En cuanto á la técnica de las siembras, fué lo mismo que las anteriores.

La dilución primera fué al vigésimo.

También casi todas las placas empleadas fueron de Petruschky.

El primer día, temperatura 14°, ningún desarrollo.

El segundo día, temperatura 19°, poco desarrollo.

El tercer día, temperatura 18°, regular desarrollo, 5 placas. liquidadas.

Damos á continuación los resultados obtenidos:

Octubre 28 de 1901

Profundidades	Control	DILUCIONES 1/32	1/64	1/128	Total de gérmenes POR gramo de tierra
Tierra de la superficie	0	Liq:	Liq:	Liq:	—
» á 0m50	0	18	13	10	17.920
» » 1m	0	6	5	4	6.820
» » 1m50	0	25	5	3	10 020
» » 2m	0	20	6	4	10.240
» » 2m50	0	2	4	0	2.120
» » 3m	0	11	7	6	10.440
» » 3m50	0	4	7	3	6.400
» » 4m	0	3	0	0	640
» » 4m50	0	Liq:	Liq:	2	5.120
» » 5m	0	7	3	1	3.560

Octubre 29 de 1901

Profundidades	Control	DILUCIONES 1/32	1/64	1/128	Total de gérmenes POR gramo de tierra
Tierra de la superficie	0	—	—	—	—
» á 0m50	0	Liq:	Liq:	Liq:	—
» » 1m	0	8	5	5	8.080
» » 1m50	0	Liq:	Liq:	4	10.240
» » 2m	0	31	Liq:	5	16.320
» » 2m50	0	Liq:	4	0	2.560
» » 3m	0	12	11	9	14.920
» » 3m50	0	4	Liq:	3	5.120 *
» » 4m	0	9	0	0	1.920
» » 4m50	0	—	-	Liq:	—
» » 5m	0	Liq:	Liq:	1	2.560 *

(*) Estas numeraciones no están en relación con las anteriores por haberse liquidado varias placas.

Cuadro demostrativo y comparativo de los diferentes exámenes cualitativos de aerobios del suelo de Buenos Aires, efectuados por nosotros

(CANTIDAD DE MICROORGANISMOS POR GRAMO DE TIERRA)

EXÁMENES de	PROFUNDIDADES																			
	Superficie		0m 50		1m		1m 50		2m		2m 50		3m		3m 50		4m		4m 50		5m	
	1ª Numeración	2ª »	1ª »	2ª »	1ª »	2ª »	1ª »	2ª »	1ª »	2ª »	1ª »	2ª »	1ª »	2ª »	1ª »	2ª »	1ª »	2ª »	1ª »	2ª »	1ª »	2ª »
Recoleta **1er. Examen** *Septiembre 9 y 11 — 1901*	755.840	Liquidadas	450.770	1.127.680	219.840	345 280	15.040	30.400	320	2.340												
Recoleta **2º Examen** *Septiembre 21 y 23 — 1901*	5.953.280	Liquidadas	793 600	Liquidadas	329.380	368.640	90.660	99 620	280.320	317.440	53.320	56.960	31.560	34.660								
Ex Cementerio del Sud **Parque Bernardino Rivadavia** *Octubre 18 y 19 — 1901*	1.454.080	Liquidadas	209.060	Liquidadas	88.320	Liquidadas	130.560	Liquidadas	25.160	28.800	10 020	12.800	5.120	5 960	3.840	6.400	200	1.480	2.120	3.400	18.560	21.120
Ex Chacarita **Parque del Oeste** *Octubre 28 y 29 — 1901*	Liquidadas	Liquidadas	17.920	Liquidadas	6.820	8.080	10.020	10.240	10.240	16 320	2.120	2.560	10.440	14.920	6.400	5 120	640	1.920	5.120	Liquidadas	3.620	2.560

Buenos Aires, Noviembre 4 de 1901.

Nómbrase á los señores Académico Dr. Roberto Wernicke, Profesor Titular Dr. Carlos Malbrán, y Profesor Suplente Dr. José Badía, para que constituidos en Comisión, se sirvan dictaminar respecto de la admisibilidad de esta tesis.

J. R. Fernández.
Zenón Aguilar.

Buenos Aires, Noviembre 8 de 1901.

Señor Decano:

Transcribo á continuación el acta labrada con motivo de la tesis presentada por el ex-alumno Sr. Alberto Greslebin.

« En el local de la Facultad á 8 de Noviembre de « 1901, reunida la Comisión que suscribe encarga- « da de dictaminar respecto de la admisibilidad de « la tesis del ex-alumno Sr. Alberto Greslebin que « versa sobre « Primeros exámenes bacteriológicos « del suelo de Buenos Aires », resolvieron ad-

« mitirla. Con lo que terminó el acto.—(Firmado):
« R. WERNICKE, C. MALBRAN, JOSÉ BADÍA—*Carlos*
« *Robertson*, pro-secretario»

Zenón Aguilar.

Buenos Aires, Noviembre 8 de 1901.

Entréguese esta tesis al interesado para su impresión, debiendo fijarse por Secretaría el día en que haya de ser sostenida.

J. R. FERNÁNDEZ.
Zenón Aguilar.

BIBLIOGRAFÍA

ADAMETZ.—*Untersuchungen über die miederen Pilze der Ackerkrume* —Tęsis de Leipzig 1886.

ANALES DEL INSTITUTO PASTEUR.—Años 1887, 1890, 1891, 1892, 1893.

BADÍA J.—*Examen bacteriológico de materiales de construcción.*—(Saneamiento de la Provincia de Mendoza, E. Coni 1897). Buenos Aires.

BEUMER.—*Sobre la bacteriología del suelo.*—Deutsche med; Woch 1886.

2º *Censo de la República Argentina.*—1895 tomo I.

CORNIL Y BABES.—*Les bactéries.*

COURMONT J.—*Precis de Bacteriologie.*—1897.

DAVISON D. T. R.—*La salud.*—Revista mensual de Higiene 1899, 1900, 1901. Buenos Aires.

DUCLAUX.—*Traitè de microbiologie.*

FRAENKEL.—*Untersuchungen über das Vorkommen von Mikroorganismen in verschiedenen Bodenschiten (Zeitschr. für Hygiene.*—II, 3r p., p. 521, 1887).

FLÜGGE Y HENRIJEAN.—*Les microorganismes.*—1887.

KRAMER.—*Die Bakteriologie in ihren Beziehungen zur handwirthschaft.*—Viena 1890.

MACÉ.—*Traitè de Bacteriologie.* 1901.

MAGGIORA.—*Recherches quantitatives sur les microbes du sol et leurs rapports avec le degrè de souillure.*—*Giorn:* d. R. Acad. di medicina, 1887 Nº 3.

MIQUEL.—*Annales de l'Observatorie de Montsouris.*—1879 et Suivantes.

PAGLIANI, MAGGIORA, FRATTINI.—*Contribución al estudio de los microbios del suelo, Giorn: d. S. I. di igiene.*—1887.

REIMERS.—*Ueber den des Gehalt des Bodens an Bacterien (Zeitschr. für Hygiene.*—VII. 1889).

WINOGRADSKY.—*Recherches sur les microorganismes de la nitrification,* 1890.

PROPOSICIONES ACCESORIAS

I

En nuestro suelo, el perforador que dá mejores resultados, es el adoptado por nosotros.

II

Los enemas de ácido pícrico constituyen un buen tratamiento local de las colitis pseudo-membranosas.

III

La presencia de cilindros en la orina de los escarlatinosos es constante.