

Actividad antibiótica del *Penicillium funiculosum* Thom (estirpe C 20-A) ⁽¹⁾

por

EL ORENCIO BUSTINZA

Wilkins y Harris dieron cuenta en 1942 de que *P. funiculosum* (estirpe 6313 N. C. T. C.) mostraba actividad positiva frente a *Bacterium coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas pyocyanea*, únicas bacterias que ensayaron (2).

En 1948 el Dr. R. E. Shope dió cuenta de que los filtrados del líquido de cultivo en el cual se había desarrollado durante seis a diez días una estirpe de *Penicillium funiculosum*, frecuentemente prolongan la vida de ratones infectados con el virus de la Influenza del cerdo, cuando se administran por la vía intraperitoneal (3).

En el mes de julio de 1953 recibí del Dr. Shope tres trabajos suyos (4), en los cuales da cuenta de su labor investigadora durante seis años en relación con la actividad anti-virus de la estirpe de *P. funiculosum*, que aisló en Guam en 1945 y que fué identificada

(1) Este trabajo fué presentado el día 8 de septiembre de 1953 en la sección de Inhibidores del Crecimiento Microbiano del VI Congreso Internacional de Microbiología celebrado en Roma. Presidió en aquel momento la sesión la doctora E. A. Bliss.

(2) W. H. WILKINS and G. C. M. HARRIS, *Investigation into the production of bacteriostatic substances by fungi. I. Preliminary examination of 100 fungal species.* «Brit. Jour. Exp. Path.», 23: págs. 166-169, 1942.

(3) R. E. SHOPE, *The therapeutic activity of a substance from «P. funiculosum» against swine influenza virus infection of mice.* «Am. J. of Botany», dec. 1948. Abst. pág. 803.

(4) R. E. SHOPE, *An antiviral substance from «P. funiculosum». I. Effect upon infection in mice with Swine Influenza Virus and Columbia SK Encephalomyelitis Virus. II. Effect of Helenine upon infection in mice with Semliki Forest Virus. III. General properties and characteristics of Helenine.* «The J. of Exp. Med.», may I, 1953, vol. 97, núm. 5, págs. 601-650.

por los Dres. Thom y Raper y que figura actualmente en la colección del «Northern Regional Research Laboratory» de Peoria con el número 2075. El Dr. Shope ha designado con el nombre de *Helenina* al precipitado activo que ha obtenido, añadiendo acetona al líquido que sobrenada después de centrifugar una suspensión de las hifas de dicho mohó. La *helenina* es activa frente al *Virus SK de la Encefalomièlitis* y frente al *Semliki Forest Virus*.

* * *

De una tierra de origen volcánico recogida por mí el día 14 de junio de 1949 junto al borde de la Caldera de Vandama (Gran Canaria), aislé en el otoño de ese año un *Penicillium* *estirpe C 20-A* que pertenecía al grupo *Biverticillata symmetrica* y el cual en los ensayos *in vitro* en medios de cultivo sólidos reveló un amplio espectro antibacteriano. Remité dicha *estirpe* para su identificación correcta al Dr. Raper, quien en septiembre de 1950 me escribió las siguientes líneas:

We find this to represent most nearly "Penicillium funiculosum" Thom. The strain possesses certain individual characteristics, for example, the production of more abundant yellow mycelium than most members of this species. However, I do not feel that it should be regarded as a separate species and would assign it under the name indicated.

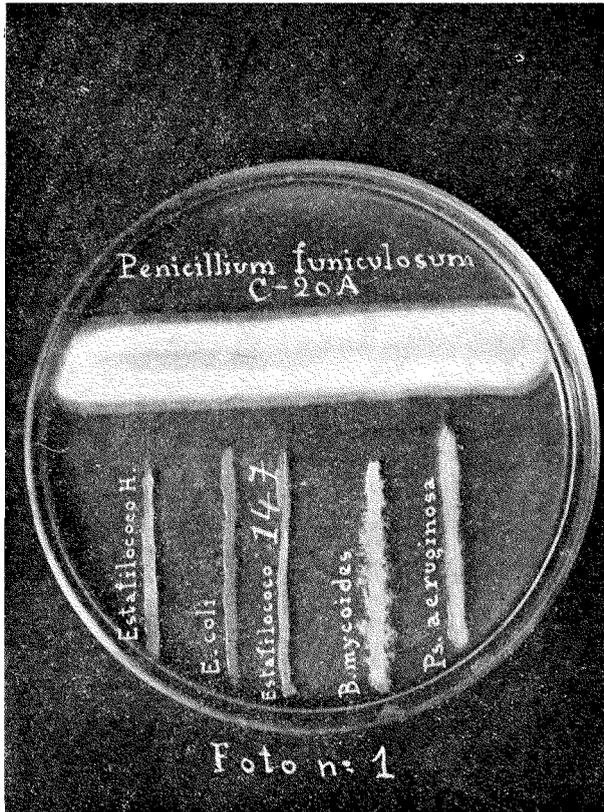
Con la valiosa información del Dr. Raper me hallé en condiciones para revisar la bibliografía en relación con *P. funiculosum* y averigüé que los Dres. Wilkins y Harris y el Dr. Shope habían señalado actividad antibiótica para esta especie de *Penicillium* en 1942 y en 1948, respectivamente, conforme he indicado anteriormente.

Actividad antibiótica del "Penicillium funiculosum" Thom, estirpe C 20-A cultivado en medio de cultivo sólido con glucosa (5).

Composición del medio de cultivo: glucosa, 10 grs.; peptona Merck, 5 grs.; Difco meat extract., 3 grs.; ClNa, 5 grs.; agar, 15 grs., y agua destilada, 1.000 c. c. pH ajustado a 7,3.

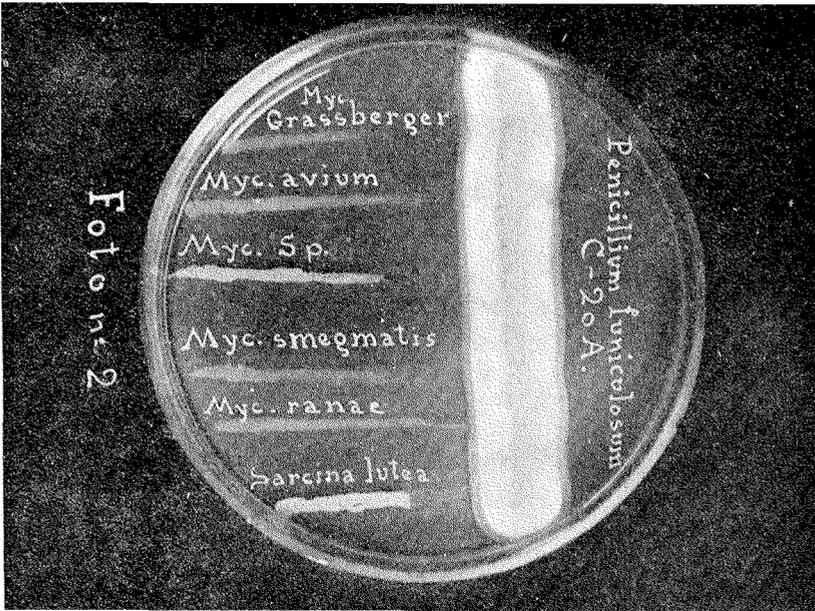
(5) Quiero expresar mi gratitud al Sr. D. Juan Daza Valdés por su ayuda en la preparación de los medios de cultivos empleados en este trabajo.

Varios Petri conteniendo este medio se siembran con una suspensión de esporas del *P. funiculosum* C 20-A (cultivado en fungus-agar) mediante una pipeta capilar, con la cual se distribuye la suspensión de esporas (en agua estéril) a lo largo de una línea paralela al diámetro de la placa. Después de tres o cuatro días de



incubación a 24° C. se siembran las bacterias (cultivos de veinticuatro horas en caldo) con pipeta capilar en dirección perpendicular a la colonia del moho. Se incuban ahora las placas a 37° C. y después de veinticuatro horas se examinan, repitiéndose las observaciones a las cuarenta y ocho horas.

La foto 1 refleja la actividad del *P. funiculosum* C 20-A frente a:



Staphylococcus aureus (estirpe H), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (estirpe núm. 147) (6), *B. mycoides* (7) y *Pseudomonas aeruginosa*.

La foto 2 refleja la actividad del *P. funic. C 20-A* frente a: *Mycobacterium paratub. grassberger* (8), *Mycob. avium* (9), *Mycobacterium* sp. (10), *Mycob. smegmatis* (11), *Mycob. ranae* (12) y *Sarcina lutea* (13).

La foto 3 refleja la actividad del *P. funic. C 20-A* frente a: *B. licheniformis* (14), *Klebsiella 41*, *Proteus vulgaris* y *B. cereus* (15).

La foto 4 refleja la actividad del *P. funic. C 20-A* frente a *Eberthella typhosa*, *Bacillus dysentericus* (Shiga), *Vibrio comma* (Lisboa), *Escherichia coli (faecalis)* y *Klebsiella pneumoniae* (16).

La foto 5 revela la actividad del *P. funic. C 20-A* frente a *Micrococcus lysodeikticus* (17), *Sarcina lutea*, *B. mycoides*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus* (H), *Staphylococcus aureus* (estirpe número 147, penicilin-resistente) y *Streptococcus β hemolyticus*.

Las fotos 6 y 7 revelan la actividad de *P. funic. C 20-A* frente a 10 estirpes diferentes de *Ps. aeruginosa*, de las cuales la 424, 427, 432, 414, 434 y 425 fueron facilitadas por el prof. Hauduroy y la 53R962, 53R963 y 53R964 fueron facilitadas por el Dr. Woodruff (Director de la Sección de Microbiología de Merck and Co. Inc.). Aunque *P. funiculosum C 20-A* es activo *in vitro* frente a las doce estirpes de *Ps. aeruginosa* ensayadas, sin embargo dicha actividad es de grado inferior a la que presenta dicho moho frente a las otras especies bacterianas ensayadas. *P. funiculosum C 20-A* reveló tam-

(6) Facilitada por Lady Fleming.

(7) Estirpe NRRL B. 615.

(8) 55 B (C. C. T. M. de Lausanne).

(9) 177 (C. C. T. M. de Lausanne).

(10) Recibida del N. C. T. C. como *Mycobacterium phlei*, pero según el prof. Penso este *Mycobacterium* no es lisado por el fago *phlei*.

(11) 169 (C. C. T. M. de Lausanne).

(12) Recibida del «Trudeau Laboratory».

(13) Recibida de «Abbott Laboratories».

(14) 7198 del N. C. T. C.

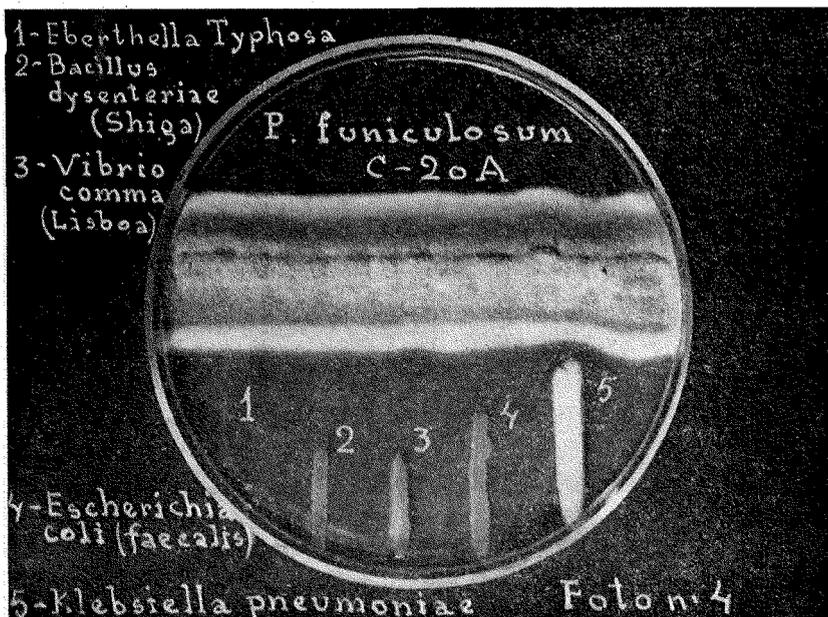
(15) Estirpe NRRL B 569.

(16) Estas cinco especies me fueron suministradas por el Dr. Joaquín de la Torre del Instituto Nacional de Sanidad.

(17) Estirpe descendiente de la original aislada por Sir Alexander Fleming.

bién «actividad antitúngica» *in vitro* frente a *Saccharomyces cerevisiae* (18) y *Torulopsis utilis* var. *major* (19), y menor actividad frente a *Candida albicans* (20).

Este amplio espectro antibiótico me hizo pensar en que quizá esta estirpe de *P. funiculosum* producía una enzima del tipo de la *glucosa-oxidasa* o *Glucosadeshidrogenasa*, la cual en presencia de



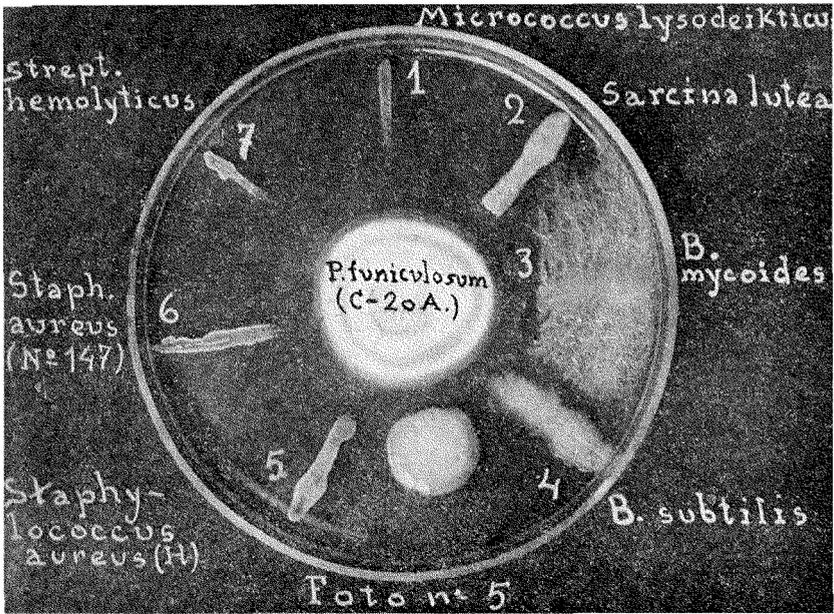
la glucosa del medio de cultivo producía agua oxigenada, y este hidróperóxido sería el responsable del amplio espectro antibiótico.

He podido comprobar la presencia de agua oxigenada en el medio de cultivo sólido (con glucosa) sobre el cual se ha desarrollado durante tres o cuatro días el *P. funiculosum* C 20-A, por el método de la peroxidasa con jugo de patata o de raíz de rábano rusticano

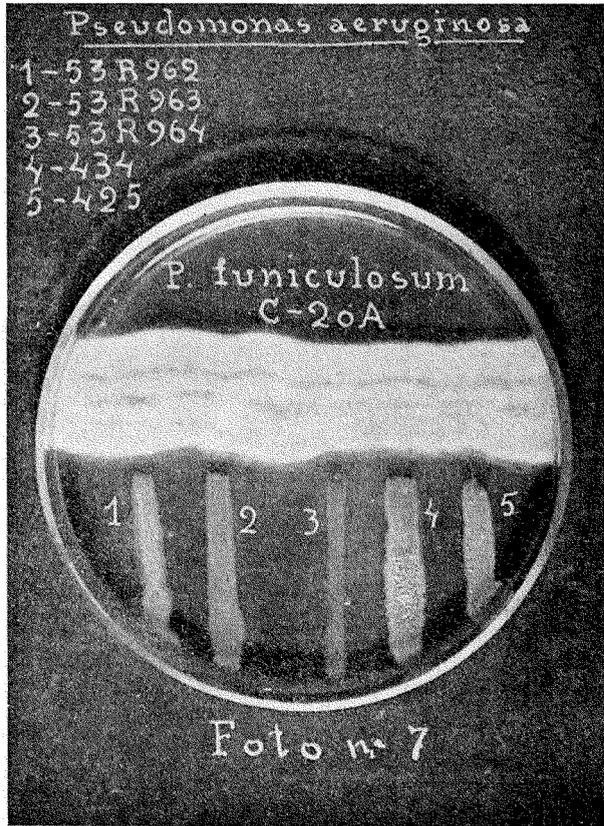
(18) Estirpe NRRL Y-567.

(19) Estirpe facilitada por Sir Alexander Fleming, quien la gestionó del «Imperial Mycological Institute».

(20) Estirpe NRRL Y-477.



(*Cochlearia armoracia*) y disolución alcohólica de bencidina. La coloración azul fué positiva en las proximidades del borde de la co-



lonia del moho y perdía intensidad la reacción a medida que el ensayo se practicaba a mayor distancia del borde de la colonia (21).

Experiencias similares en placas de *P. funiculosum* C 20-A desa-

(21) Se hicieron las necesarias pruebas de control para cerciorarse de que la disolución de bencidina no se azulaba en presencia del jugo de patata empleado o del jugo del rábano rústicano y que la disolución de bencidina sola no se azulaba con el medio de cultivo metabolizado por el *P. funiculosum* C 20-A. Es decir, que la coloración azul solamente se conseguía cuando se ponían en presencia los tres factores: *peroxidasa*, *bencidina* y el problema que contenía el *hidroperóxido*.

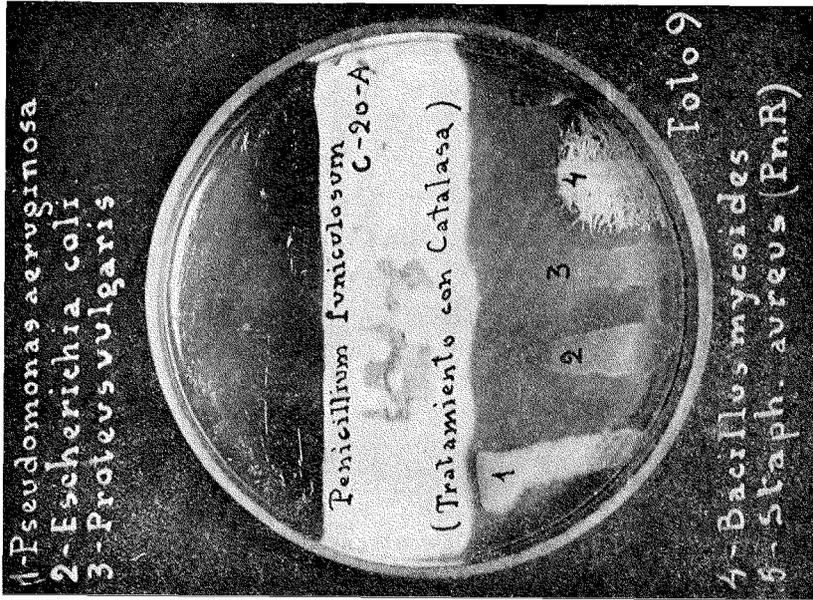
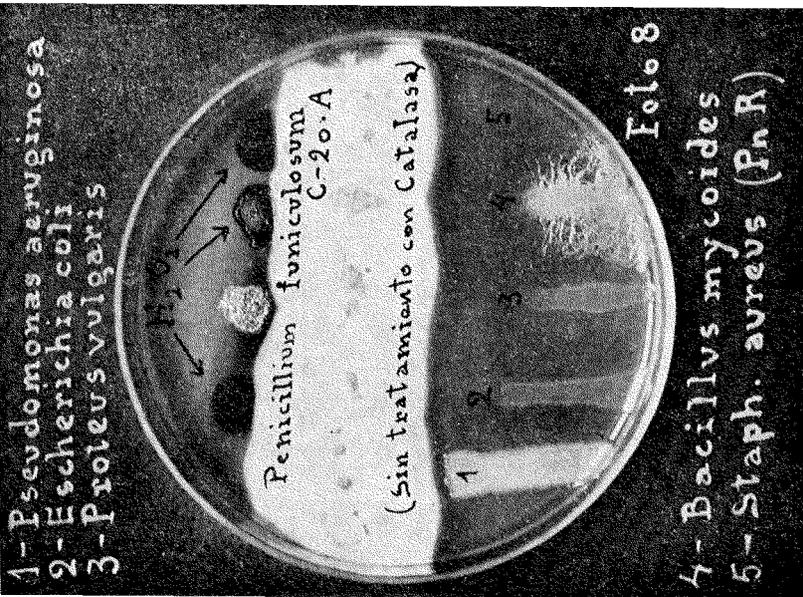
rollado «en medio de cultivo sólido sin glucosa no dieron reacción positiva de agua oxigenada».

En consecuencia deduje que *P. funiculosum C 20-A* produce H_2O_2 cuando se desarrolla en medios de cultivo conteniendo glucosa y no en los desprovistos de dicho glúcido, y decidí ensayar las pruebas de actividad antibacteriana después de destruir al agua oxigenada. Para ello empleé un preparado catalásico que recibí del «Nobel Institute of Biochemistry» de Estocolmo, gracias a la amabilidad del Dr. Åke Åkeson. Primero realicé la siguiente experiencia:

Extendí una disolución acuosa estéril de catalasa activa sobre el medio de cultivo sólido con glucosa al cual había añadido previamente 1 c. c. de agua oxigenada a 10 volúmenes por cada 10 c. c. de medio. Dejé que la catalasa actuara durante una hora a la temperatura de la habitación y después de ese período de acción la reacción de la peroxidasa para identificar al H_2O_2 resultó negativa, prueba de que la catalasa había destruido al agua oxigenada. Como con esta experiencia quedaba demostrado que el preparado catalásico de que disponía podía inactivar una cantidad de agua oxigenada muy superior a la que existía en el medio de cultivo en el que se había desarrollado el *P. funiculosum C 20-A*, extendí la disolución catalásica sobre la superficie del medio de cultivo sólido con glucosa en el que se había desarrollado durante tres o cuatro días *P. funic. C 20-A*; dejé que actuara la catalasa durante una hora; comprobé en una porción de la placa que el agua oxigenada estaba inactivada y entonces extendí en la forma usual con pipeta capilar cultivos de veinticuatro horas en caldo de las bacterias a ensayar. Incubé las placas a 37° C. y al día siguiente comprobé que las reacciones del agua oxigenada seguían siendo negativas, pero no por ello se había negativizado la actividad antibacteriana.

Las fotos 8 y 9 revelan la actividad del *P. funic. C 20-A* en medio sólido con glucosa sin tratamiento con catalasa (22) y con tratamiento con catalasa frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus mycoides* y *Staph. aureus*

(22) En la foto 8 se aprecia, en la dirección que indican las flechas, cómo la reacción de la peroxidasa con bencidina ha resultado positiva para el agua oxigenada.



(estirpe penicilin-resistente). Se aprecia que la actividad antibacteriana es sensiblemente paralela en ambas placas frente a *E. coli*, *Proteus vulgaris* y *P. mycoides* y solamente un poco más activa en las placas sin tratamiento con catalasa en relación con *Ps. aeruginosa* y *Staph. aureus* (Pn R).

Conclusión.

P. funiculosum C 20-A produce peróxido de hidrógeno en los medios de cultivo sólidos con glucosa, pero después de la inactivación del agua oxigenada con catalasa, la actividad antibacteriana es aproximadamente del mismo grado que cuando contiene el hidroperoxido y esto hace pensar en que *P. funiculosum* C 20-A produce aparte del H_2O_2 otras sustancias responsables de su actividad antibiótica.

Actividad de "*P. funiculosum* C 20-A" cultivado en medio de cultivo sólido sin glucosa.

La composición del medio era igual a la señalada salvo que no contenía glucosa.

Se observó actividad frente a los microbios ensayados, excepto frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Las bacterias ensayadas fueron todas las citadas anteriormente, excepto *B. cereus*, *B. licheniformis* y *Streptococcus hemolyticus* (23).

La actividad frente a *Eberthella typhosa*, *B. dysenteriae*, *V. comma*, *E. coli*, *Klebsiella 41* y *Kl. pneumoniae* (bacterias Gram negativas) fué tan grande en el medio sin glucosa como en el medio con glucosa, fenómeno no observado en relación con las otras bacterias ensayadas, ya que frente a ellas *P. funiculosum* C 20-A se

(23) La actividad del *P. funiculosum* C 20-A cultivado en medio con glucosa y en medio sin glucosa la he ensayado también frente a *Neisseria catarrhalis*, *Micrococcus prodigiosus* (estirpe Forner) y un bacilo difteróide, resultando positiva frente a estas tres bacterias y en ambos medios con y sin glucosa. Frente a *Brucella* sp., estirpe núm. 19 (avirulenta), *P. funiculosum* C 20-A ha revelado actividad en medios con glucosa. En medio sin glucosa no he ensayado la actividad frente a *Brucella* sp., *Neisseria catarrhalis*, *Micrococcus prodigiosus*, bacilo difteróide y *Brucella* sp. me fueron facilitadas por el Dr. Joaquín de la To re.

reveló más activo en el medio de cultivo sólido conteniendo glucosa que en el medio sin glucosa.

El pH del medio cultivo sin glucosa sobre el cual se había desarrollado *P. funiculosum* C 20-A durante tres o cuatro días, fué de 6,30 y en el medio con glucosa fué de 5,35. Las determinaciones fueron practicadas por el Dr. Fernando Montequi por el procedimiento potenciométrico.

Actividad de "P. funiculosum C 20-A" cultivado en medios de cultivo líquidos.

He utilizado un medio de cultivo con glucosa similar al señalado anteriormente, pero sin agar, y también el medio de Czapek.

El desarrollo del moho se ha realizado en cultivo estacionario a 24° C.

El líquido de metabolismo de nueve-diez días de desarrollo tenía un pH entre 4,5 a 5 y se reveló activo frente a *B. mycoides*, *Staphylococcus aureus* H., *Staphylococcus aureus* núm. 147, *Sarcina lutea*, *Mycobacterium avium*, *Mycob. smegmatis*, *Mycob. sp.*, *Proteus vulgaris* y *Klebsiella 41*, pero en general esta actividad no fué muy grande.

En abril de 1951 envié mi *P. funiculosum* C 20-A al Instituto de Investigaciones de Merck and Co. Inc. de Rahway N. J., al saber que ellos estaban realizando entonces en colaboración con el Dr. Shope un amplio programa de investigaciones sobre la actividad anti-virus de diferentes estirpes de *Penicillium funiculosum*. Esta circunstancia motivó el que yo no prosiguiera mis ensayos sobre la actividad antibiótica de mi estirpe de *P. funiculosum* en medios líquidos, y por lo tanto no llegué a establecer las condiciones óptimas para un buen rendimiento antibiótico en cultivo líquido.

El Dr. Woodruff, Director de Investigaciones Microbiológicas de Merck and Co. Inc. de Rahway, me ha comunicado que *P. funiculosum* C 20-A en cultivos agitados posee actividad frente a bacterias Gram positivas, Gram negativas y también frente a hongos patógenos, predominando una u otra de estas acciones según la composición del medio de cultivo.

En noviembre de 1950 traté de obtener la estirpe 6313 de *P. funiculosum* con la cual realizaron los Dres. Wilkins y Harris su investigación, pero no la logré, comunicándome el Dr. Wilkins que ya no la poseía y que tampoco la tenían en el «Commonwealth Mycological Institute», ni en el «American Type Culture Collection».

Mis intentos para conseguirla del N. R. R. L. en Peoria han resultado negativos.

(El Dr. Wilkins me puso en contacto con el Dr. Dade, Director Adjunto del «Commonwealth Mycological Institute», quien me remitió, en diciembre de 1950, tres estirpes de *P. funiculosum*: NRRL 1032 a, NRRL 1786 y NRRL 2075 (24).

CUADRO NÚM. 1

Estirpe de <i>P. funiculosum</i>	Staph. aureus H	B. my- coides	Sarci- na lu- tea	Staph. aureus n.° 147	Mic. ly- sodeik- ticus	Ps. aeru- ginosa	E. coli	Pr. vulgaris	Myc. avium	Myc. smeg- matis
C 20-A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NRRL 2075	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
NRRL 1768	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
NRRL 1032 a	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-

En febrero de 1951 inicié el estudio de la actividad antibiótica de esas tres estirpes de *P. funiculosum*, comparándola con la de mi estirpe C 20-A. En el cuadro núm. 1 presento el resultado de dicha

(24) En diciembre de 1950 yo no sabía que NRRL 2075 era la estirpe con la cual el Dr. Shope realizó su trabajo sobre la actividad anti-Virus Influenza del cerdo, ya que este dato me fué comunicado por el propio Dr. Shope en carta que me escribió con fecha de 2 de julio de 1953.

investigación. — significa actividad nula. + significa actividad positiva, cuya intensidad queda reflejada por el número de +. El medio de cultivo empleado fué sólido y con glucosa.

La estirpe 1032 a únicamente reveló ligera actividad frente a *Micrococcus lysodeikticus* y *Sarcina lutea*, y alguna mayor actividad frente a *B. mycoides*, pero resultó completamente inactiva frente a las demás bacterias ensayadas.

La estirpe 1768 se reveló inactiva frente a *E. coli*, con ligera actividad frente a *Staphylococcus aureus* H. y *Pseudomonas aeruginosa*, y con alguna mayor actividad frente a las demás bacterias.

La estirpe 2075 se reveló inactiva frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium avium* y *Mycob. smegmatis*, con alguna actividad frente a *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus* núm. 147 y *Proteus vulgaris*, y con buena actividad frente a *Staphylococcus aureus* H., *B. mycoides* y *M. lysodeikticus*.

Ninguna de esas tres estirpes mostró espectro antibiótico tan amplio como la C 20-A.

CUADRO NÚM. 2

Estirpe de <i>P. funiculosum</i>	Staph. aureus H	Klebsiella 41	E. coli	Ps. aeruginosa	Staph. aureus N.º 117	Mycob. minetti	Mycob. smegmatis	B. mycoides
C 20-A	++ ++ +	+ +	++ ++ +	+	++ ++ +	++ ++ +	++ ++ +	++ ++ +
NRRL 2126	+ +	+	+	-	+ ++ +	+ +	+ +	+ ++ +
NRRL 2127	+	+	+	-	+	-	-	+ +
NRRL 1033	-	-	-	-	-	-	-	+
NRRL 2075	-	-	-	-	-	-	-	-

En septiembre de 1952 recibí de la Dra. D. I. Fennell, del N. R. R. L. en Peoria, las estirpes de *P. funiculosum* siguientes: NRRL

1033, NRRL 2126 y NRRL 2127, y en noviembre de 1952 inicié el estudio de la actividad antibiótica de esas tres estirpes, comparándola con la actividad de la C 20-A. También volví a ensayar la estirpe NRRL 2075.

En el cuadro núm. 2 presento el resultado de dicha investigación. El medio de cultivo empleado fué sólido y con glucosa.

La estirpe 1033 solamente reveló ligera actividad frente a *B. mycoides*.

La estirpe 2127 reveló ligera actividad frente a *Staph. aureus* H., *Klebsiella 41*, *E. coli* y *Staphylococcus aureus* 147, alguna actividad mayor frente a *B. mycoides* y resultó inactiva frente a *Ps. aeruginosa*, *Mycob. minetti* (25) y *Mycob. smegmatis*.

La estirpe 2126 resultó inactiva frente a *Ps. aeruginosa*, con ligera actividad frente a *Kleb. 41*, y *E. coli*, con alguna actividad frente a *Staph. aureus* H., *Mycob. minetti* y *Mycob. smegmatis*, y con buena actividad frente a *Staph. aureus* núm. 147 y *B. mycoides*.

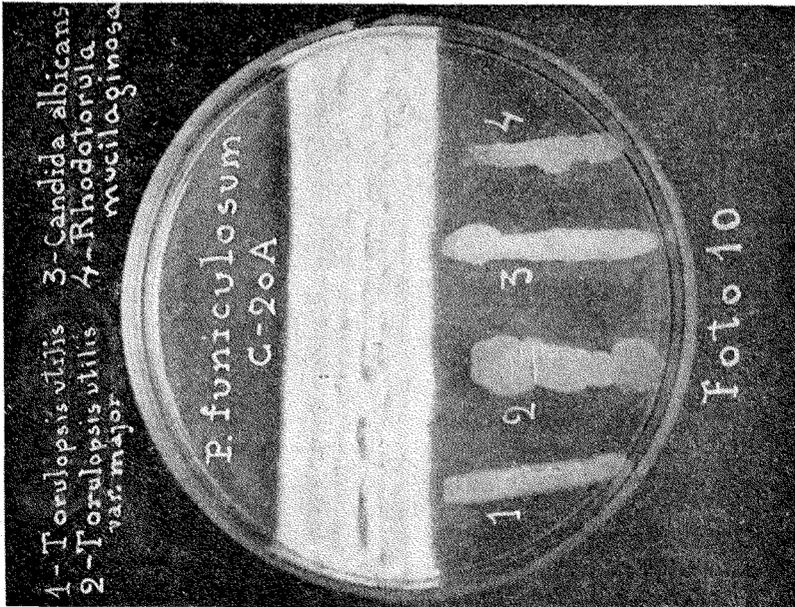
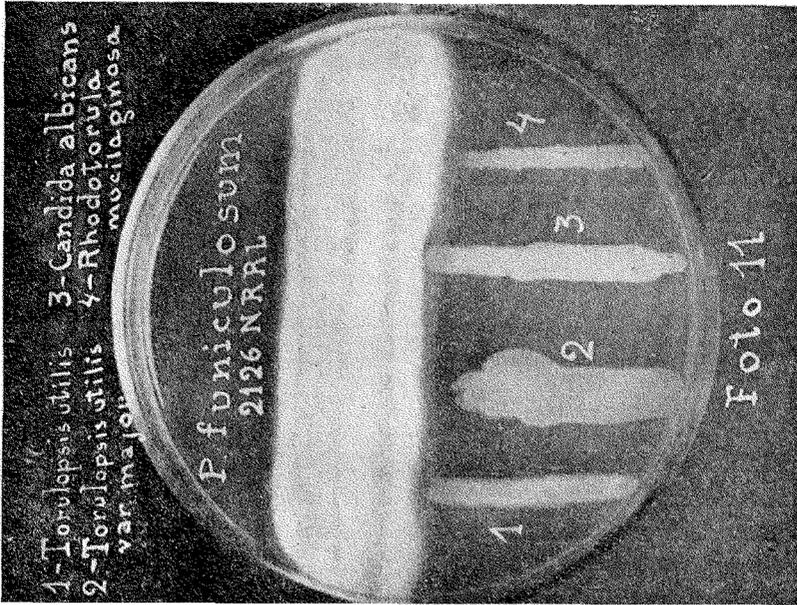
Como anteriormente, mi estirpe C 20-A resultó también con espectro antibiótico más amplio que el de esas tres estirpes.

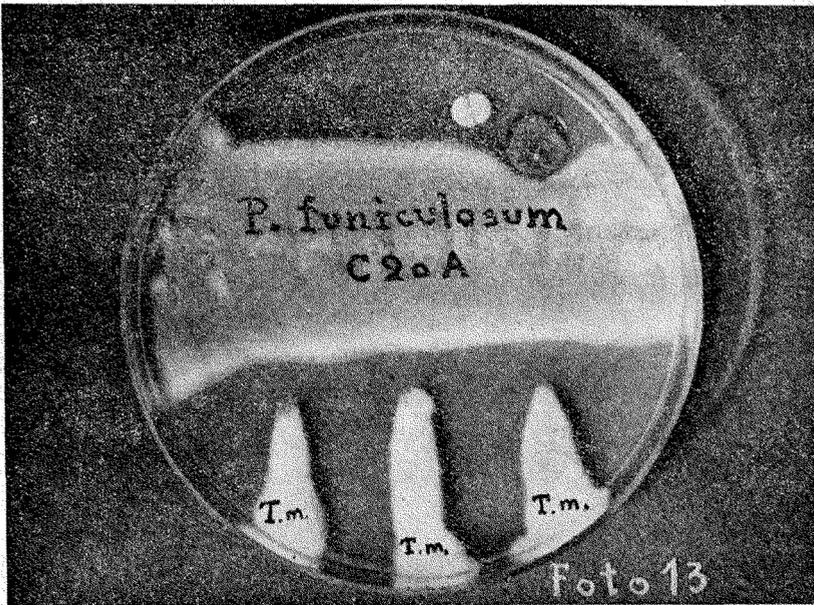
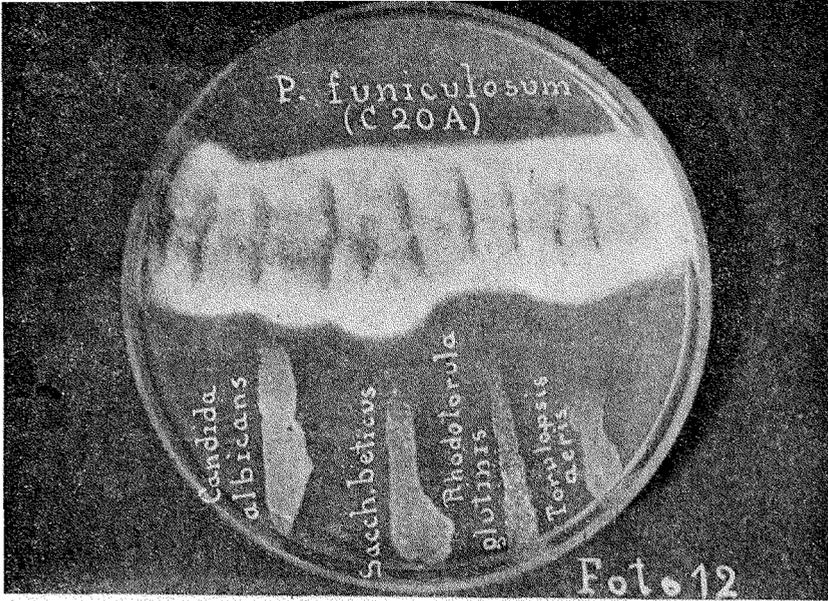
Merece consignarse que la estirpe 2075, en estos ensayos de noviembre de 1952, no reveló actividad frente a las especies de bacterias ensayadas y en cambio en el cuadro núm. 1 se puede apreciar que en febrero de 1951 poseía cierta actividad e incluso que su actividad era buena frente a *Staphylococcus aureus* H., *B. mycoides* y *M. lysodeikticus* (26).

Las fotos 10 y 11 reflejan la actividad del *Penicillium funiculosum* C 20-A y *P. funic. NRRL 2126*, respectivamente, frente a tres levaduras y a *Candida albicans*. La estirpe 2126 solamente se reveló activa en este ensayo frente a *Torulopsis utilis* var. *major*, y en cambio la estirpe C 20-A se mostró activa frente a *Torulopsis uti-*

(25) La estirpe de *Mycob. minetti* me fué remitida por el profesor Penso.

(26) En carta que me escribió el Dr. Shope con fecha 3 de agosto de 1953, me comunicaba que cuando él ensayó la actividad antibacteriana de su estirpe 2075 de *P. funiculosum* (varios años después de haberla aislado), no observó ninguna actividad frente a las bacterias Gram positivas y Gram negativas empleadas. En dicha carta también me comunicó el Dr. Shope que mi estirpe C 20-A de *P. funiculosum* fué ensayada con resultado negativo frente al *Swine Influenza Virus* y frente al *SK Encephalomyelitis Virus*.





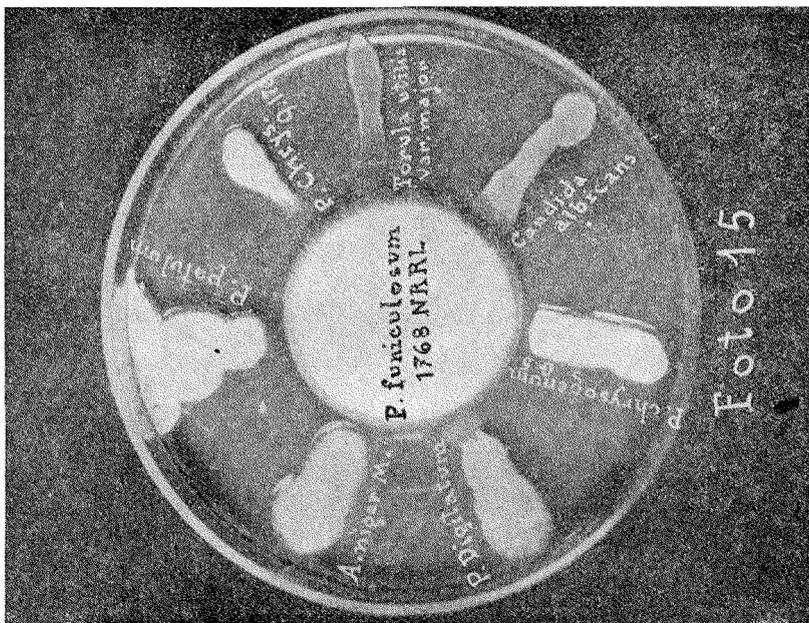


Foto 15

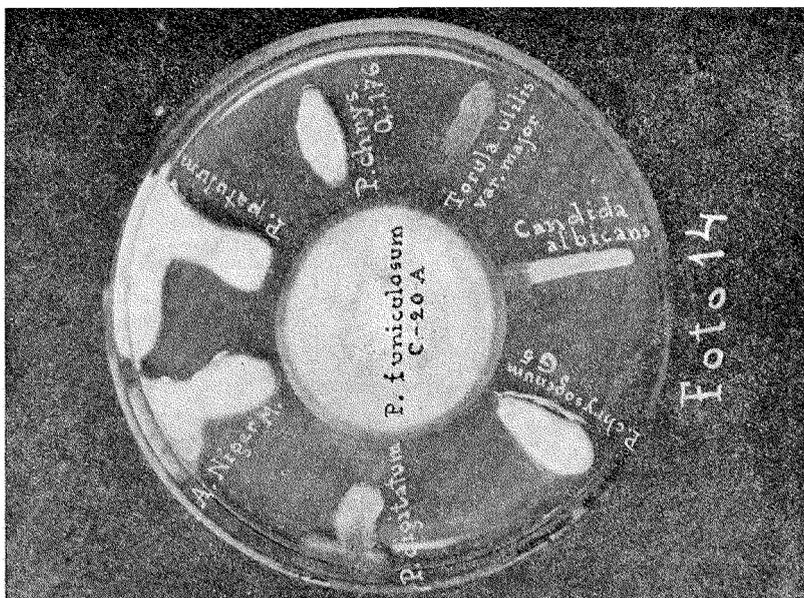


Foto 14

lis, *Torulopsis utilis* var. *major*, *Candida albicans* (ligera actividad) y *Rhodotorula mucilaginosa* (27).

La foto 12 refleja la actividad antifúngica de *P. funiculosum* C 20-A frente a *Candida albicans*, *Saccharomyces beticus* (M. et F.), *Rhodotorula glutinis* y *Torulopsis aeris* (28).

La foto 13 refleja la actividad antifúngica de *P. funiculosum* C 20-A frente al hongo patógeno *Tricophyton mentagrophytes* (29).

Las fotos 14 y 15 reflejan la actividad antifúngica de *P. funiculosum* C 20-A y de *P. funiculosum* 1768, respectivamente, frente a *P. patulum*, *P. chrysogenum* Q. 176, *Torulopsis utilis* var. *major*, *Candida albicans*, *P. chrysogenum* G. 5, *P. digitatum* y *A. niger* M. La actividad antifúngica de estas dos estirpes es bastante paralela, aunque con ligera ventaja por parte de la C 20-A frente a *Torulopsis utilis* var. *major*, *P. chrysogenum* Q. 176, *P. chrysogenum* G. 5 y *P. digitatum*.

Conclusiones.

De una tierra de origen volcánico que recogí en la isla de Gran Canaria (Caldera de Vandama), he aislado una estirpe de *Penicillium funiculosum*, que posee amplio espectro antibiótico. Dicha estirpe figura en mi colección con el número C 20-A y en la colección del «Northern Regional Research Laboratory» de Peoria con el número A-3247.

Penicillium funiculosum C 20-A se ha revelado en los ensayos *in vitro* con mayor actividad antibacteriana y antifúngica que las demás estirpes de *P. funiculosum* ensayadas y que han sido NRRL: 1032 a, 1033, 1768, 2126, 2127 y 2075.

En los medios de cultivo sólidos con glucosa sobre los que se ha desarrollado durante tres o cuatro días el *P. funiculosum* C 20-A, he podido evidenciar la presencia del agua oxigenada. En los medios sin glucosa no he evidenciado al H_2O_2 .

(27) El ingeniero Sr. D. E. Feduchi tuvo la gentileza de identificar esta *Rhodotorula* que yo había aislado.

(28) Las estirpes de *Saccharomyces beticus* (M. et F.), *Rhodotorula glutinis* y *Torulopsis aeris* var. *granulata* me fueron facilitadas por el Sr. D. E. Feduchi.

(29) El *Tricophyton mentagrophytes* me fué facilitado por el Dr. G. W. Irving, descubridor de la tomatina.

Inactivando con catalasa al hidróperóxido he observado que la actividad antibacteriana persiste, por lo que deduzco que *P. funiculosum* C 20-A produce uno o más antibióticos aparte de poseer un mecanismo enzimático mediante el cual a expensas de la glucosa del medio se produce el agua oxigenada.

Las bacterias sobre las cuales *P. funiculosum* C 20-A ha mostrado actividad *in vitro* son:

<i>Bacillus brevis</i>	<i>Mycob. minetti.</i>
<i>Bacillus cereus.</i>	<i>Mycob. paratuberculosis grassberger.</i>
<i>B. dysenteriae (Shiga).</i>	<i>Mycob. paratuberculosis ranae.</i>
<i>B. licheniformis.</i>	<i>Mycob. paratuberculosis smegmatis.</i>
<i>B. mycoides.</i>	<i>Mycobacterium sp.</i>
<i>B. polymyxa.</i>	<i>Mycobacterium 007 SMR.</i>
<i>B. subtilis.</i>	<i>Neisseria catarrhalis.</i>
<i>Brucella sp.</i>	<i>Proteus vulgaris.</i>
<i>Bacilo difteróide.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa.</i>
<i>Eberthella typhosa.</i>	<i>Sarcina lutea.</i>
<i>Klebsiella 41.</i>	<i>Staphylococcus aureus H.</i>
<i>Klebsiella pneumoniae.</i>	<i>Staphylococcus aureus 147.</i>
<i>Micrococcus lysodeikticus.</i>	<i>Streptococcus hemolyticus.</i>
<i>Micrococcus prodigiosus.</i>	<i>Vibrio comma.</i>
<i>Mycobacterium avium.</i>	

Los hongos sobre los cuales *P. funiculosum* C 20-A ha revelado actividad *in vitro* son:

<i>Aspergillus niger.</i>	<i>Saccharomyces beticus.</i>
<i>Candida albicans.</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae.</i>
<i>Penicillium chrysogenum.</i>	<i>Torulopsis aeris var. granulata.</i>
<i>Penicillium digitatum.</i>	<i>Torulopsis utilis.</i>
<i>Penicillium patulum.</i>	<i>Torulopsis utilis var. major.</i>
<i>Rhodotorula glutinis.</i>	<i>Tricophyton mentagrophytes.</i>
<i>Rhodotorula mucilaginosa.</i>	

SUMMARY

A strain of *Penicillium funiculosum* Thom, isolated by me from a soil of volcanic origin, listed in my collection as C 20-A and as A-3247 in the collection of the Northern Regional Research Laboratory of Peoria, in the *in vitro* tests, has shown wider antibiotic spectrum as compared with strains of *P. funiculosum* 1032 a, 1033, 1768, 2126, 2127 and 2075 of the N. R. R. L.

In solid culture media with glucose, on which *P. funiculosum* C 20-A has

grown during three or four days, I have been able, by the peroxydase method, to demonstrate the presence of hydrogen peroxide.

After the inactivation of hydrogen peroxide with catalase, the antibiotic activity is still present, from which fact I conclude that *P. funiculosum* C 20-A produces one or more antibiotic substances, besides having an enzymatic system that produces hydrogen peroxide from glucose.

Lists are given of the bacteria and fungi against which *P. funiculosum* C 20-A has shown *in vitro* antibiotic activity.