

L. 711-3. FM/780



FM/780



b/f 849

Adiciones á la flora bacteriana de las aguas potables de Madrid

POR

J. MADRID MORENO

(Lámina II.)

En otro trabajo publicado por esta Sociedad (1), hice la descripción de todas aquellas especies de bacterias que había encontrado en las aguas de esta Capital, como resultado de una larga labor que hace años vengo realizando en las mismas. Siendo realmente corto el número de publicaciones dedicadas á la descripción de aquéllas y en distintos idiomas, así como monografías y trabajos sueltos, á éstos he tenido que acudir para las clasificaciones. Muchas de las descripciones hechas por los primitivos autores, carecen de algunos caracteres importantes para su identificación, cosa que nada tiene de extraño, tratándose de períodos en que la bacteriología estaba en sus comienzos, por decirlo así. El progreso de esta rama ha hecho, no sólo poner á su servicio una técnica más ampliada y precisa, sino que dado el número de especies, se imponía desde luego una clasificación que estuviera en armonía con las empleadas en las Ciencias naturales. Así, pues, todas las especies que en mi anterior memoria he descrito, como las que reseño en la actual, han sido encontradas, aisladas y estudiadas detenidamente en el trabajo diario que se realiza en la Sección de bacte-

(1) *Contribución á la flora bacteriana de las aguas potables de la villa de Madrid*, tomo III, Memoria 2.^a, 1905.

riología del Laboratorio municipal de Higiene de esta Capital. Se han podido añadir nuevos caracteres á bastantes especies y hallar otras, cuya descripción no había sido reseñada en trabajos ya publicados. No dudo que existirán pormenores que rectificar en las descripciones que hacemos; pero esta labor sólo podrá corregirse en el transcurso del tiempo, y cuando otros autores confirmen y pulimenten las observaciones realizadas por los demás.

Nos hemos servido para las clasificaciones, de las obras de Macè, Migula, Matzuschita, Eisenberg, etc., bibliografía ya citada en mi anterior trabajo. Me es muy grato el significar, que para la confección de los adjuntos cuadros de clasificación, he tenido la ayuda de los Sres. Remis, Utande y Estébanez, profesores de dicho Laboratorio, los cuales han confirmado también en sus observaciones muchas de las especies descritas por mí, como asimismo el Sr. Escribano, conservador del Museo de Ciencias naturales, el cual generosamente se ha prestado á realizar algunos de los dibujos que acompañan á esta Memoria.

GÉNEROS.

Micrococcus.

(Cultivos en gelatina).

I. Colonias blancas ó grises.....

- | | | | | |
|---------|---|-------------------|---|--|
| A..... | { | No liquidantes... | { | <i>M. concentricus</i> , <i>M. cereus albus</i> , <i>M. candidans</i> , <i>M. stelatus</i> . (<i>M. uræ</i>) |
| | | Gram. positivo... | | |
| B. | { | Liquidantes..... | { | <i>M. coronatus</i> , <i>M. albus</i> , <i>M. albinus</i> . |
| | | Gram. positivo... | | |

II. Colonias amarillas ó amarillentas.....

- | | | |
|--------------------|------------------|--|
| A. No liquidantes. | Gram. positivo.. | <i>M. flavus tardigradus</i> , <i>M. luteus</i> . |
| B. Liquidantes... | Gram. positivo.. | <i>M. flavus desidens</i> , <i>M. flavus liquefaciens</i> , <i>M. radiatus</i> , <i>M. cremoides</i> . |

III. Colonias rojas ó rosadas.....

- | | | |
|--------------------|------------------|--|
| A. No liquidantes. | Gram. positivo.. | <i>M. cinnabareus</i> , <i>M. cerasinus siccus</i> . |
| B. Liquidantes... | Gram. positivo.. | <i>M. subroseus</i> . |

Sarcinas.

(Cultivos en gelatina).

I. Colonias amarillas ó amarillentas.....

- | | | |
|------------------|------------------|---|
| Liquidantes..... | Gram. positivo.. | <i>S. lutea</i> , <i>S. luteola</i> , <i>S. flava</i> . |
|------------------|------------------|---|

Colonias rojas... ..

- | | | |
|------------------|------------------|------------------------|
| Liquidantes..... | Gram. positivo.. | <i>S. aurantiaca</i> . |
|------------------|------------------|------------------------|

GÉNEROS:

Bacillus. (Cultivos en gelatina).	I. Colonias blancas ó grises	A. No liquidantes.	Gram. negativo..	<i>B. lactis aerogenes</i> , <i>B. albus</i> , <i>B. aquatilis</i> , <i>B. coli</i> .
		B. Liquidantes...	Gram. positivo..	<i>B. figurans</i> .
			Gram. negativo..	<i>B. liquefaciens</i> , <i>B. putridus albus</i> , <i>B. filiformis</i> , <i>B. hidrosulphureus carneus</i> , <i>B. vermiculosus</i> .
			Gram. positivo..	<i>B. mesentericus fuscus</i> , <i>B. putrificus coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. implexus</i> , <i>B. liquidus</i> , <i>B. Zophii</i> , <i>B. vulgaris</i> , <i>B. mycoides</i> .
	II. Colonias amarillas ó amarillentas.....	A. No liquidantes.	Gram. negativo..	<i>B. sulcatus</i> , <i>B. fluorescens albus</i> , <i>B. aureus</i> , <i>B. chryseus</i> , <i>B. pheniceus</i> , <i>B. aurantius</i> , <i>B. pseudo aurantiacus</i> , <i>B. rubefaciens</i> , <i>B. annulatus</i> .
		B. Liquidantes...	Gram. positivo..	<i>B. rosettaceus</i> .
			Gram. negativo..	<i>B. viridis flavus</i> , <i>B. arborescens</i> , <i>B. citrinus</i> , <i>B. flavus</i> , <i>B. lutescens</i> , <i>B. cloacæ</i> .
			Gram. positivo..	<i>B. ochraceus</i> , <i>B. vermicularis</i> .
	III. Colonias rojas.....	A. No liquidantes.	Gram. negativo..	<i>B. cruentatus</i> .
		B. Liquidantes...	Gram. positivo..	<i>B. latericeus</i> .
			Gram. negativo..	<i>B. prodigiosus</i> , <i>B. fuchsinus</i> .
			Gram. negativo..	<i>B. fluorescens putridus</i> , <i>B. aquatilis fluorescens</i> , <i>B. fluerecens albus</i> , <i>B. cæruleo-viridis</i> , <i>B. berolinensis</i> .
Vibrio. (Cultivos en gelatina).	IV. Colonias azules, violetas y verdosas ..	A. No liquidantes.	Gram. negativo..	<i>B. pseudotiphosus</i> , <i>B. fluorescens liquefaciens</i> , <i>B. viscosus</i> , <i>B. pyocyaneus</i> , <i>B. janthinus</i> .
		B. Liquidantes...	Gram. positivo..	<i>B. membranaceus amethystinus mobilis</i> .
	Colonias blancas ó grises. No Liquidantes ..		Gram. negativo..	<i>V. concentricus</i> , <i>V. minervinii</i> .

Familia Clamidobacteriáceas.	{	GÉNEROS:	{	Colonias blancas ó grises.....	Liquidantes.....	Gram. positivo..	<i>Cl. albina.</i>
		Cladothrix. (Cultivos en gelatina).		Colonias amarillas ó amarillentas..	No liquidantes....	Gram. positivo..	<i>Cl. aurantiaca.</i>
					Liquidantes.....	Gram. positivo..	<i>Cl. ochroleuca, Cl. crenata.</i>
				Colonias rojas ó pardas	Liquidantes.. ...	Gram. positivo..	<i>Cl. chromogenes, Cl. gilba.</i>
				Colonias azules, violetas ó verdes..	Liquidantes.....	Gram. positivo..	<i>Cl. versicolor.</i>
Fam. Sacaromicáceos.	{	GÉNERO:	{	Colonias blancas ó grises.....	No liquidantes....	Gram. positivo..	<i>S. albus.</i>
				Sacchraromices. (Cultivos en gelatina).	Colonias rojas ó rosadas.....	No liquidantes ...	Gram. positivo..

Micrococcus ureae Pasteur.

Coccus grandes, generalmente reunidos en diplococcus, tetradas ó cadenas. Resiste al Gram. Inmóvil.

Colonias en gelatina.—Pequeñas, de un aspecto blanco nacarado, superficie lisa y borde perfectamente delineado. Cuando envejecen, ofrecen el aspecto de una gota de estearina. Vistas al microscopio son granuladas. No líquidas. Las colonias en agar son opacas, observándose que después de diez ó doce días de cultivo, ofrecen su mayor tamaño en este medio.

Gelatina (estria).—Estrato blanco porcelanáceo, desarrollado á lo largo de la línea de siembra, sin llegar á las paredes del tubo.

Gelatina (picadura).—Pequeño botón, de un aspecto semejante al anterior, redondeado, liso, con el centro un poco levantado. Desarrollo en el canal de la picadura.

Agar (estria).—Cultivo muy semejante al de gelatina, tanto en aspecto como en desarrollo.

Agar (picadura).—Igual que en gelatina.

Suero de sangre.—Se desarrolla bien, destacándose perfectamente su crecimiento. Agua de condensación ligeramente turbia, sedimento blanco. (En los medios sólidos el cultivo es mucoso.)

Caldo.—Ligero enturbiamiento. Sedimento blancuzco que al agitarse es filamentosos, levantándose en masa.

Agua de peptona.—Aspecto y caracteres igual al anterior. No da indol.

Patata.—Es característico; se desarrolla formando gotas semejantes á las de rocío, que cuesta trabajo distinguirlas á simple vista, por confundirse su aspecto y transparencia con el color de la misma. Saprofito.

Descompone la urea en carbonato amónico. El mejor medio de cultivo para comprobarlo es el ideado por Jacksch, y que se compone de $\frac{1}{16}$ gramo de sulfato magnésico, $\frac{1}{8}$ gramo de fosfato ácido de potasa, 5 gramos de tartrato sódico potásico y 5 gramos de urea, en un litro de agua. Basta también una pequeña dosis de urea en agua esterilizada, para percibir á los pocos días el olor amoniacal. Encontrada esta especie en el viaje Bajo Abroñigal.

Sarcina luteola (Gruber).

Colonias en gelatina.—De color amarillo, llegan á alcanzar á simple vista, cerca de un centímetro de diámetro. Observadas al microscopio están constituidas por gruesas granulaciones, siendo

los bordes sinuosos y desiguales y el centro levantado. No liquidan la gelatina.

Gelatina (estría).—Desarrollo abundante que no alcanza las paredes del tubo. Estría festonada en los bordes. Sedimento en el agua de condensación, pero sin enturbiarla.

Gelatina (picadura).—Botón levantado, de bordes irregulares, centro elevado, no llegando á alcanzar las paredes del tubo. En el canal de la picadura finas granulaciones.

Agar (estría).—El aspecto del cultivo es semejante al de la gelatina, pero el desarrollo es más abundante.

Agar (picadura).—Otro tanto sucede en esta disposición del cultivo, llegando el estrato á alcanzar las paredes del tubo.

Suero de sangre gelatinizado.—Se desarrolla con abundancia en este medio, liquidándolo lentamente.

Leche.—No la coagula. Ligeramente ácida.

Caldo.—Lo deja completamente limpio. Sedimento amarillo.

Agua peptonizada.—Los caracteres del cultivo son iguales al anterior. No produce indol.

Patata.—Desarrollo abundante. Estrato seco, levantado, de bordes rugosos y festonados. Forma paquetes en todos los medios.

Encontrada en las aguas del viaje de la Castellana.

Bacillus cruentatus sp. nov. Madrid Moreno.

Bacilos con movimiento.—Se descoloran por el método de Gram. Materia colorante soluble en alcohol, cloroformo y agua.

Aspecto microscópico.—Bacilos cortos y gruesos, extremidades redondeadas, presentando la forma de *coccus*, los cuales se unen dos á dos y alargándose toman forma de 8, hasta formar un solo individuo, el cual se estrecha un poco hacia su parte media. Otros constituyen filamentos (*patata*).

Se presentan desde la forma de *coccus* á la de cortos filamentos, y cadenas de dos á tres *coccus* (*agar*).

Colonias en gelatina.—Antes de las cuarenta y ocho horas aparecen á simple vista, formando pequeñísimas granulaciones. Al microscopio son redondeadas, con más ó menos regularidad, la periferia delgada y fina, la parte central granulosa de un color ligeramente anaranjado. Se rodean de un anillo de liquefacción que rápidamente se extiende por toda la placa liquidándola en seguida. A las setenta y dos horas toda la placa se ha liquidado, flotando parte de las colonias rojizas así como sus fragmentos, cons-

**

tituyendo el pigmento una especie de nebulosidad de color carmesí.

Colonias en agar.—Colonias irregulares, transparentes, granuladas, próximamente de un milímetro de diámetro.

Gelatina (picadura).—La licuación alcanza pronto las paredes del tubo, tomando forma de embudo. En la parte líquida se observan grumos ó copos blanquecinos y en el fondo del canal de la picadura el color es mucho más acentuado. Forma una película de color carmín con brillo metálico.

Gelatina (estría).—Como la licuación es rápida, pronto se forma un sedimento bajo el aspecto de grumos blanquecino rosáceos. Una vez liquidada la gelatina toma un aspecto vinoso.

Agar (picadura).—Poco desarrollo en el canal de la picadura, en el cual se observan granulaciones amarillentas. Superficialmente desarrollo abundante, de aspecto seco al principio, bordes lobulados y en donde aparece el brillo metálico.

Agar (estría).—Desarrollo de una película rugosa, de color al principio anaranjado, adquiriendo después el color carmín, presentando hasta llegar á éste matices intermedios. Al principio el estrato es seco, adquiriendo más tarde aspecto húmedo, al mismo tiempo que desaparecen las rugosidades. En el agua de condensación, que es turbia, es donde primeramente se presentan las graduaciones de color carmín.

Suero de sangre gelatinizado.—Abundante desarrollo al principio amarillo naranja, que se conserva en la parte superior del medio, adquiriendo después color rosáceo. En el fondo del tubo aumenta el producto de la liquidación del medio, de color rosa, donde nadan copos más rojos.

Caldo.—Enturbiamiento uniforme, con ligero sedimento de color rosa, formando velo del mismo color, por bajo del cual existe una zona de líquido coloreado del mismo matiz.

Agua de peptona.—Los mismos caracteres que en el cultivo de caldo.

Patata.—Cultivo abundante, al principio rojo pimentón. Superficie algo seca y granulosa, comenzando el cambio de color por el centro. A los cuatro ó cinco días pasa al rojo carmín. La superficie se vuelve húmeda y lisa. El líquido subyacente se encuentra teñido de rosa sucio.

Leche.—La coagula, estando el pigmento repartido desigualmente. Reacción ácida.

Encontrada en las aguas procedentes del viaje Amanuel.

Bacillus punctatus Zimm.

Bacilos aislados ó formando alineaciones de dos ó tres. Grueso de 0,77 μ , largo oscilando entre 1 y 1,60 μ . Móviles. Sin esporas. No se coloran por el método de Gram.

Colonias en gelatina.—Colonias que á los tres días alcanzan un diámetro de 12 mm., aplastadas y que liquidan la gelatina. La parte liquidada es gris, azulado ó blancuzco, con masas ó puntos de bacterias que se depositan, presentando una delicada corona de filamentos y fluidificándose en forma de copa.

Gelatina (picadura).—El medio de cultivo se liquida en forma de ampolla, mostrándose turbia la parte liquidada. No presenta película y forma un depósito blanco de mediano desarrollo.

Gelatina (estria).—Caracteres semejantes al anterior.

Agar (picadura).—Estrato uniforme grisáceo, húmedo, liso, que alcanza las paredes del tubo. El canal de la picadura con abundante desarrollo.

Agar (estria).—Regular desarrollo, con caracteres semejantes al anterior.

Patata.—Abundante desarrollo de color pardo rojizo, carnoso, húmedo, que cubre toda la superficie de la patata y que lentamente va obscureciéndose.

Caldo.—Enturbamiento rápido y uniforme. Se forma una película delgada que pronto cae al fondo en forma de pequeños copos, donde se reúnen formando un sedimento de color blanco grisáceo.

Suero de sangre gelatinizado.—Se desarrolla liquidándolo lentamente.

Leche.—La coagula, disolviendo el coágulo. Reacción fuertemente ácida.

Produce escasa cantidad de indol.

Hallado en las fuentes del agua del Lozoya.

Bacillus hidrosulphureus carneus sp. nov. Madrid Moreno.

Bacilos cortos, medianos, gruesos, con las extremidades redondeadas, con frecuencia unidos en pares ó formando cortos filamentos. No tiene esporas. Movimientos vivos. Gram, negativo.

Colonias en gelatina.—Examinadas á las veinticuatro horas con el microscopio, las profundas son más ó menos ovaladas ó piriiformes, notándose que de su borde parte algún que otro filamento ó prolongaciones radiciformes.

Al llegar á la superficie son redondeadas y granulosas, cuyo borde está rodeado por una corona de espinas. Más tarde, la zona periférica es un poco más oscura, con finas sedas, siendo toda la parte central más clara, granulosa y grisácea. Antes de las cuarenta y ocho horas se ha liquidado toda la placa. Cuando llegan á su completo desarrollo alcanzan un diámetro de 1 á 2 cm.

Gelatina (estría).—Rápidamente comienza la licuación por el sitio de la estría, formándose un canal profundo; en el fondo del tubo, enturbiamiento con grumos grisáceos.

Gelatina (picadura).—Licuación en forma de embudo, que pronto alcanza las paredes, haciéndose tubular. Grumos esparcidos en la parte líquida.

Agar (estría).—Se desarrolla por igual, formándose un estrato blanquecino cremoso, céreo, que alcanza las paredes del tubo. Agua de condensación lechosa. Se forman en el medio burbujas de gas.

Agar (picadura).—Desarrollo como en el anterior, que alcanza las paredes del tubo, liso, de aspecto céreo. Desarrollo en el canal de la picadura.

Suero de sangre.—Desarrollo abundante, fundiendo el medio y dejando un abundante sedimento grisáceo.

Caldo.—Enturbiamiento uniforme, con sedimento blanquecino. Forma una delgada película, que luego cae al fondo.

Leche.—La coagula. Reacción fuertemente ácida. No da indol.

Patata.—Estrato cremoso, levantado, de color de carne, con formación de burbujas de gas.

Las inoculaciones practicadas intraperitonealmente, no producen alteraciones patológicas en el conejo de Indias.

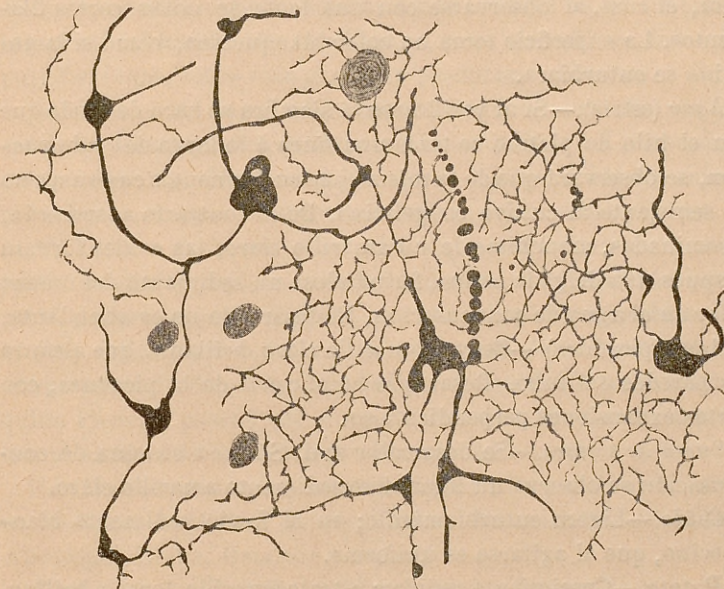
El papel de subacetato de plomo, colocado en los tubos de cultivo (agar, patata), toma coloración negruzca.

Encontrada esta especie en las aguas del Lozoya.

Bacillus figurans Crookshank.

«En las placas de cultivo, expuestas al aire, se encuentran diversos bacilos en vía de desarrollo. Entre éstos, se halla uno que presenta un cultivo muy característico. En la placa aparecen unas manchas opacas, y si de éstas se recoge una pequeña porción, fijándola en un cubre-objetos, se observa que está compuesta por bastoncitos paralelos y de muy distinto tamaño. Las cadenas de bastones terminan retorciéndose de una manera especial, dando

lugar al nacimiento de ramas, que se esparcen en distintas direcciones. Estas ramificaciones, á su vez, se retuercen también, dando lugar á otras más finas. El bacilo cultivado en gelatina nutritiva forma en la superficie sinuosidades, de cuyo contorno salen filamentos que se introducen en el medio de cultivo. La disposición que afectan estos filamentos es casi paralela entre sí, y per-



Cultivo en placa de gelatina. Colonia desarrollada á los ocho días.

pendiculares al curso de la picadura. Sobre la superficie del agar inclinado, los filamentos se extienden, afectando una disposición que recuerda por su forma á la de una pluma. No liquida la gelatina.» (Crookshank, *Manual of Bacteriology*, 3.^a edit. London, 1890.) A la descripción que hace el autor hay que añadir los siguientes datos:

Los bacilos resisten al método de Gram. Vivos movimientos. Bacilos cortos, robustos, con extremidades redondeadas; desde la forma de cóccus á la de cortos filamentos.

Colonias en agar.—Crecimiento rápido. A las cuarenta y ocho horas aparecen ya formadas, y á los ocho días alcanzan su total desarrollo, de 1 mm. de diámetro. A simple vista se asemejan al micelio de un hongo, como asimismo observadas con débil aumen-

to al microscopio. La parte central de la colonia es oscura, pero sin limitación.

Gelatina (estría).—Perpendicularmente á la estría de inoculación se forman finísimos filamentos, los cuales se dirigen hacia la parte superior, dando un aspecto al cultivo semejante al de una pluma de ave.

Gelatina (picadura).—Escaso desarrollo en el canal de la picadura, el cual, al observarse con una lente, se notan cortos filamentos. La superficie toma un color blanquecino, como si la gelatina se enturbiara.

Agar (estría).—Si al verificarse la siembra se hace de modo que con el hilo de platino se trace una línea á lo largo del *substratum*, se observará que de la misma parten filamentos cuyo aspecto es semejante al cultivo en gelatina. De lo contrario aparecerán, diseminadas, manchitas de un amarillo claro, las cuales forman después una delgada patina, formándose un sedimento del mismo color en el agua de condensación. El desarrollo no es abundante.

Agar (picadura).—Estrato amarillo claro, brillante, que alcanza las paredes del tubo. Desarrollo en el canal de la picadura, con cortas expansiones perpendiculares.

Suero de sangre.—Se desarrolla mal. Sólo en el agua de condensación se observa un ligerísimo sedimento amarillo claro.

Caldo.—Ligero enturbiamiento; en el fondo sedimento blanquecino, que al agitarse es uniforme.

Patata.—Crecimiento regular; estrato amarillo dorado, brillante, con los bordes festonados.

Leche.—Reacción alcalina.

Encontrada esta especie en las aguas procedentes del río Manzanares.

Bacillus vulgaris (Hauser).—*Proteus vulgaris* (Hauser).

Generalidades.—Hauser fué el primero que, bajo la denominación de *Proteus*, agrupó unas especies de *bacillus*, cuyos cultivos en gelatina presentaban caracteres macroscópicos especiales, y que después se ha visto corresponden también dichos aspectos á otros muchos gérmenes microscópicos; por esta y otras razones, Migula, Macé y otros no aceptan el nuevo género de Hauser, é incluyen sus especies, con sobrado acierto, entre el inmenso número de *bacillus*.

Ocasiona esta bacteria la fermentación de la glucosa y sacarosa,

pero no la lactosa; en la orina la urea se transforma en carbonato amónico; los nitratos son reducidos á nitritos y aun á amoníaco.

Resulta patógeno para el conejo de Indias y conejo común; inoculado subcutáneamente, determina en éstos abscesos pútridos, y á dosis masivas produce la muerte por intoxicación, con diarrea, disnea, etc.

Encuéntrese en los terrenos y aguas que han sido contaminados por materias en putrefacción; existe también en el contenido intestinal del hombre en estado sano, y en general en todas las putrefacciones, sobre todo si son de productos animales.

Desempeña un papel ciertamente patógeno, pues algunos casos de *botulismo* pueden atribuirse á este microbio ó á sus productos de secreción. Otras veces favorece la acción de ciertos microorganismos, complicando los procesos con las toxinas, á que da lugar, ó bien exaltando su virulencia, y así lo han encontrado junto con dos *staphylococcus* en algunos casos de infección puerperal, gangrena pulmonar, etc., etc. Esta especie microbiana no es muy resistente á la acción del calor, pues perece pronto á una temperatura de 60°; es una de las que resisten á la acción del líquido Parietti, pasando de unos cultivos á otros cuando se practica el análisis de las aguas por este procedimiento.

Ha sido encontrada con bastante frecuencia, y muy abundante, en las aguas de Madrid (Lozoya, Retiro, Amaniel, Alcubilla, Bajo Abroñigal, Reina, Retamar y Berro).

Morfología y coloración.—Observada al microscopio y en gota pendiente, teñida con solución acuosa de eosina, el cultivo en caldo, á las cuarenta y ocho horas de sembrado y mantenido en la estufa á 37°, se aprecian perfectamente los movimientos, rápidos á veces y más lentos otras, de gérmenes con tamaño variable, desde los más cortos *bacillus*, casi *coccus*, hasta elementos bastante largos, dotados de movimiento lento como de reptación. Debe hacerse esta investigación en las condiciones dichas, y con cultivos aerobios si se han de obtener buenos resultados.

Examinando preparaciones definitivas, fijadas con poco calor y teñidas por cualquiera de las fórmulas colorantes más usadas en bacteriología, se observan elementos más ó menos largos, que pueden variar desde la forma de cocobacilos hasta la de larguísimos filamentos, 80 μ . y aún más, estar derechos ó encorvados, ondulados y en espiral, siendo esta última forma la que recibió el nombre de *Spirulina*.

Como se ve, las formas de involución son aquí muy frecuentes; pero lo general es que se presente en bastones de extremos redondeados de $0,5 \mu$ de grueso por $1,25 \mu$ de largo, teniendo los elementos gruesos y largos un estrechamiento hacia el centro, á modo de estrangulación, perfectamente visible cuando están coloreados, sobre todo si lo son por el *azul cotton*, y que posee la doble ventaja de teñirlos más intensamente que la materia orgánica que suele acompañarlos y permitir así su mejor diferenciación. Débese este método de coloración á Feltz, que opera del siguiente modo: después de secar al aire la preparación, sin actuar el calor, y hecha sobre un cubre con el cultivo diluído en agua, se fija con una solución á partes iguales de alcohol-éter; se deja evaporar ésta y se tiñe durante cinco minutos con solución saturada y acuosa de *azul cotton*, tratando en seguida por una solución saturada de ácido láctico, y, por fin, lavando con agua para montar en ésta y examinar en seguida, pues las preparaciones así teñidas no pueden conservarse, porque se descoloran. Tiene este bacilo la propiedad de quedar coloreado por el método de Gram, á condición de operar sobre cultivos de poco tiempo, pues los que ya tienen varios días, ó se descoloran por completo ó lo hacen parcialmente.

Posee apéndices vibrátiles bien patentizables por cualquiera de los métodos para la coloración de esta clase de pestañas; pero con el de Van Ermenghen se obtienen resultados muy superiores, mostrándolos numerosos sobre toda la superficie del bacilo, muy largos y rizosos.

Caracteres de los cultivos.—Se cultiva bien sobre todos los medios, desarrollándose rápidamente lo mismo en aerobio que en anaerobio y aun á temperaturas muy bajas, siendo las más convenientes las comprendidas entre 34 y 37° c.

Colonias en placas con gelatina.—A las cuarenta y ocho horas de cultivo, y á 22° c., presentan, por lo común, un aspecto característico. No conteniendo el medio sino 5 por 100 de gelatina, se observa que las colonias incluídas en la misma, examinadas con poco aumento, son redondas, amarillentas, casi transparentes, rodeándose muy pronto de círculos concéntricos, de los que parten en todos sentidos prolongaciones abundantes, dotadas de movimientos de emigración bien apreciables; estas expansiones sinuosas y tortuosas en tirabuzones, de diámetro desigual, están formadas por el acoplamiento, al parecer, como de nudos, de mo-

nedas ó discos ovoideos y de diferentes tamaños, que invaden por completo todo el medio y encuéntrase frecuentemente muy alejados de la primitiva colonia.

Otros comparan estas colonias á las *medusas* formadas por numerosos filamentos que parten de la colonia madre, y que, situadas en diferentes planos, dan la ilusión del astro solar con sus correspondientes rayos.

Las colonias superficiales son, por regla general, gris-azuladas á simple vista, de bordes irregulares; pero que, miradas con poco aumento, no aparecen formadas sino por prolongaciones uniformes, sin la distinción tan característica de las anteriores. La fluidificación de la gelatina se opera rápidamente.

Gelatina por picadura.—Liquidación rápida del medio, que al principio se hace en forma de copa, llegando en seguida á las paredes del tubo, y continuando desde este instante por igual hacia abajo; el líquido formado es ligeramente turbio, de reacción alcalina y con sedimento abundante gris blanquecino. Desprende olor penetrante de putrefacción.

Gelatina por estría.—Nada característico se puede apreciar, si no es la rápida liquidación del medio con formación de un surco profundo todo á lo largo de la línea sembrada; el resto de los caracteres, como en el anterior.

Agar por estría.—Colocado en la estufa á 37°, se observa á las veinticuatro horas que toda la superficie del medio está recubierta de un estrato mucoso de color grisáceo, algo blanquecino y de aspecto húmedo.

Si se añaden á 1.000 gramos de este medio unas 20 gotas de ácido láctico de 1,245 de densidad y se siembra el bacilo, colocándolo después en las mismas condiciones, verificase el desarrollo muy lentamente, y sólo al cabo de algunos días se logran ver muy pequeñas colonias de contornos irregulares y formando cadenas, cuyo eje es la línea de siembra.

Patata.—A 37° se obtiene desarrollo escaso, casi limitado á la línea de siembra y de color blanco-amarillento al principio, y parduzco después.

Caldo.—Este medio y á 37° es el que mejor le conviene; en él se desarrolla abundantemente con producción de numerosos copos, que al fin se sedimentan, formando abundante depósito. No forma velo en la superficie, y sí se desprende amoníaco.

Si al medio se agrega azufre, hay gran producción de hidrógeno

sulfurado; si no también se observa, pero con menor intensidad.

Leche.—Colocando el cultivo á 37° y en condiciones favorables para que el medio presente la mayor superficie de aireación posible, la coagulación tiene lugar entre las primeras veinticuatro á cuarenta y ocho horas después de la siembra; comenzando hacia los cinco ó seis días á disolverse el coágulo, se observa olor pútrido, que el color del medio se oscurece y que la reacción es muy alcalina. Si la leche tiene poca superficie de contacto con el aire, lo cual sucede en los tubos de ensayo, la coagulación es muy lenta, la disolución del ya formado es incompleta y la reacción del medio resultante alcalina.

Investigación del indol.—Sembrado en agua de peptona, Collas ó Chassaing y también en caldo Martin y colocada en la estufa á 37°, vegeta lo mismo que en el caldo ordinario, dando lugar á la formación de indol.

Vibrio Minervinii.—(Descrito en parte por Matzuschita. *Bacteriologische Diagnostik*.—Jena, 1902.)

Cortos y finos bacilos, rectos la mayoría de las veces, otros encorvados en forma de coma, amontonados ó en series, de dos en dos, que toman forma de S, ó largas cadenas. Se descoloran por el método de Gram. No tiene esporas. Movimiento.

Colonias en gelatina.—De fino reborde, alrededor del cual presenta un círculo blanquecino en el que la gelatina se hace opaca, sin presentar el menor indicio de liquefacción.

Gelatina (estria).—Banda estrecha, circundada por un reborde opalino, siendo el centro de aspecto granuloso.

Gelatina (picadura).—A lo largo del canal de la picadura se desarrollan pequeños puntitos de color blanco y presenta escaso crecimiento en la superficie. En la parte superior del canal se desarrolla á veces una vesícula.

Agar (estria).—Puntos blancos repartidos por toda la superficie. Agua de condensación turbia.

Agar (picadura).—Cubre toda la superficie alcanzando la pared del tubo en pocos días, siendo lisa, de color blanquecino sin iridaciones.

Suero de sangre.—Escaso desarrollo, apenas visible por confundirse con el medio.

Leche.—La coagula y digiere en parte. Reacción ácida.

Caldo.—Ligero enturbiamiento formando película poco visible.

Agua peptonizada.—Enturbiamiento y reacción del indol.

Patata.—Desarrollo escaso. Superficie lisa y brillante, casi transparente. No produce pigmento.

No fosforece.

Inoculado peritoneal y subcutáneamente aun en grandes cantidades, no produce lesiones patológicas apreciables.

Encontrado en las aguas procedentes del viaje de la Castellana.

Vibrio concentricus sp. nov. Madrid Moreno.

Desde la forma de coma á la de largos filamentos en tirabuzón. Vivos movimientos. Se descolora por el método de Gram.

Colonias en gelatina.—Aparecen á las cuarenta y ocho horas apenas perceptibles á simple vista, redondeadas, finamente granulosas, transparentes. Al llegar á la superficie son de color ligeramente amarillento, centro obscuro, y entre éste y la periferia uno ó dos anillos concéntricos. Cuando han adquirido su completo desarrollo son casi circulares, siendo el borde fino é incoloro que como una banda rodea la colonia, destacándose el centro rodeado por los dos anillos. Llegan á alcanzar un milímetro de diámetro. No liquida la gelatina.

Gelatina (estria).—Banda estrecha, blanquecina, después amarillo de Nápoles, con arrugas ó estrías transversales repartidas simétricamente y rodeadas por un borde ó banda lisa.

Gelatina (picadura).—Pequeño botón que no llega á alcanzar las paredes del tubo, cuya periferia es irregular, siendo la superficie rugosa, simétricamente radiada. Poco desarrollo en el canal de la picadura.

Agar (estria).—Se desarrolla constituyendo un estrato delgado, granuloso, húmedo, blanquecino, que alcanza las paredes del tubo. Agua de condensación grisácea.

Agar (picadura).—Pequeño botón lúcido, húmedo. Canal de la picadura desarrollado.

Suero de sangre.—Se desarrolla bien, formando un estrato delgado grisáceo, amarillento. Agua de condensación turbia, con sedimento blancuzco.

Leche.—No la coagula en ocho días. Reacción alcalina.

Caldo.—Ligero enturbiamiento uniforme. Sedimento escaso y blanquecino. Formación de una película robusta.

Agua peptonizada.—Ligero enturbiamiento, como en el caldo. Robusta película mucosa. Indol negativo.

Patata.—Abundante desarrollo después de varios días; estrato de un color pardo rojizo.

No fosforece.

Encontrado en las aguas del viaje de la Reina.

Oidium lactis (1) Madrid Moreno.

Descoloración incompleta por el método de Gram. La cápsula no se colora.

Gelatina (picadura).—Se desarrolla bien, siendo el cultivo blanco lanudo, constituido por finos filamentos que alcanza las paredes del tubo.

Los caracteres del cultivo por estría son semejantes á los del anterior.

Agar (picadura).—El desarrollo alcanza las paredes del tubo. Su aspecto es el de granulaciones blanco mate.

Agar (estria).—Cubre toda la superficie en forma de filamentos.

Suero de sangre.—El desarrollo es muy escaso, limitándose al agua de condensación.

Caldo.—Forma un velo grueso; lo restante del líquido es limpio; en el fondo nubecillas blanquecinas.

Patata.—Crecimiento por igual, recubriendo toda la superficie de finos filamentos blanquecinos.

Leche.—Forma una costra en toda la superficie, fuerte y robusta. Reacción ácida.

Encontrado en Rascafría (Lozoya).

Cladotrix aurantiaca (Gasperini).

Colonias en gelatina.—A los tres ó cuatro días de cultivo se observan colonias blanquecinas de un milímetro ó más de diámetro, levantadas sobre la superficie del medio y formadas, según se ven al microscopio, por filamentos entrecruzados, muy apretados en el centro de la colonia, el cual resulta opaco, siendo el borde semitransparente; á simple vista las colonias son opacas. En los días sucesivos aumentan de tamaño; se coloran en amarillo pálido, hundiéndose en la gelatina y apareciendo formadas por zonas con-

(1) Indicado en muchas obras de Bacteriología, pero sin indicación de autor.

céntricas. El color amarillo se hace después más intenso, adquiriendo á veces un tono rojizo, y la gelatina circundante se tiñe débilmente de color rosado.

Colonias en agar.—En los primeros días, análogos caracteres á los de las colonias en gelatina; luego adquieren color amarillento y una disposición en zonas concéntricas, cubriéndose la cara superior de una eflorescencia blanco mate, primero, y más tarde de color de ceniza. La cara inferior, amarillenta al principio, se torna después amarillo-rojiza, pudiendo llegar á ser, francamente, anaranjada al cabo de veinte ó treinta días. El medio circundante adquiere con el tiempo un tinte rosado.

Gelatina (picadura).—Desarrollo á lo largo del canal de la picadura de colonias blanco-amarillentas, aisladas ó confluentes, formando á los pocos días una cinta ó banda amarilla ó amarillo-rojiza. La colonia superficial se hunde en la gelatina, formando un embudo ó cúpula, pero sin licuar el medio, el cual se colora ligeramente de rosa.

Gelatina (estría).—Estría blanco-amarillenta, formada por colonias circulares aisladas, que al unirse constituyen una cinta algo rugosa; ésta se hunde en la gelatina, sin llegar á licuarla, y á los quince ó veinte días el medio toma un ligero tinte rosado.

Agar (picadura).—Se forma un botón blanco sucio, al principio, y después un poco amarillento y granuloso en la superficie; desarrollo con el mismo color y aspecto granujiento á lo largo de la picadura. La colonia se hace luego rugosa, elevada sobre la superficie del medio, dispuesta á veces en zonas concéntricas y con manchas yesosas formadas por los filamentos esporíferos; adquieren también color rojizo y pueden alcanzar toda la superficie libre del medio; éste se colora de rosa más ó menos intenso en la parte superior.

Agar (estría).—Colonias aisladas, discoideas, grisáceas, que se unen y forman después de algunos días un barniz blanquecino en los bordes y amarillento en el centro, con eflorescencias blanco mate, primero, y luego cenicienta. La coloración después es rosada y se transmite al medio de cultivo.

Cultivo en caldo.—Formación de copos de color blanco amarillento, sin enturbiamiento del caldo, la mayor parte de los cuales se depositan en el fondo del tubo; algunos se adhieren á las paredes y otros al borde del líquido.

Leche.—Color ligeramente rosado en la superficie, y coagula-

ción en masa á los seis ú ocho días. El coágulo se digiere lentamente, comenzando por las capas superficiales, que se tornan líquidas, permaneciendo coaguladas las inferiores. El anillo superficial es amarillento ó rosado.

Suero de sangre (estría).—Colonia de color gris sucio, formada por la reunión de otras más pequeñas, redondeadas, que confluyen al aumentar de tamaño. En algunos puntos presenta manchas blanco mate; con el tiempo el color adquiere un tono parduzco; el suero no es licuado.

Patata.—Colonia rugosa, de color blanquecino amarillento, con tono muy ligeramente rosado en algunos puntos, y á trechos cubierta por una especie de eflorescencia yesosa, blanco mate, constituida por los filamentos esporíferos. Después el color es amarillo, algo anaranjado; la patata se tiñe de rosa alrededor de la colonia, y ésta se colora de rojo á trechos. La patata adquiere más tarde, al cabo de veinte ó treinta días, un color rojo obscuro. El borde de la colonia aparece como plegado. Saprofito.

Encontrada en el fango, procedente de la presa del Villar (Lozoya).

Cladothrix chromogenes (Gasperini).

Aspecto microscópico.—Filamentos inmóviles, derechos ó sinuosos, ondulados, y á veces en espiral. Los filamentos y artrosporas quedan coloreados por el método de Gram, habiendo pequeños espacios que quedan sin colorear.

Colonias en gelatina.—Al cuarto ó quinto día, aparecen las colonias bajo el aspecto de pequeños puntos blanquecino-amarillentos, rodeadas de una aureola oscura, que se pierden en la gelatina, y cuyo anillo viene á tener de 1 á 2 mm. al microscopio; su parte central es oscura, espesa, granulosa, de la que irradian numerosos filamentos, los cuales se reparten y extienden por la gelatina. Estas colonias llegan á alcanzar un milímetro y medio de diámetro; pero al llegar á la superficie forman un botón grisáceo, recubierto á veces de una eflorescencia blanquecina. La colonia se hunde lentamente á manera que liquida la gelatina.

Gelatina (estría).—Granulaciones confluentes grisáceas, algunas de color rosáceo, que se arrugan y pliegan, ofreciendo el aspecto de una costra dura y adherente al medio. La gelatina adquiere color de café.

Gelatina (picadura).—En el canal, pequeñas colonias blanque-

cinas, coposas; en la superficie, costra rugosa de color café, el cual se comunica al medio. Escaso desarrollo en el canal de la picadura.

Agar (estría).—Desarrollo abundante en la línea de siembra, notándose un color grisáceo, rosa y anaranjado, tomando el medio color café.

Agar (picadura).—Botón rosáceo; el medio va tomando color café. Canal de la picadura desarrollado.

Caldo.—Copos blancuzcos con disposición radiada, llegando á alcanzar un centímetro de diámetro. El líquido queda claro y con el tiempo adquiere color negruzco.

Leche.—Se desarrolla en las capas superficiales, las cuales se obscurecen poco á poco, comunicándose al resto. Reacción alcalina. No se coagula.

Suero de sangre.—Se desarrolla bien y es muy característico el cultivo. Las colonias son grisáceas, levantadas y rugosas, y el medio adquiere un color café intenso.

Patata.—Se desarrolla bien; granulaciones concrecionadas, amarillas, secas, con tendencia al rosado, tomando poco á poco color rojo parduzco que lo comunica al medio de cultivo. Saprofito.

Hallado en las aguas procedentes del viaje de la Reina.

Cladotrix versicolor sp. nov., Utande.

Colonias en gelatina.—Primeramente son blanquecinas en los bordes, ligeramente amarillas en el centro, presentándose más tarde dos ó tres zonas concéntricas, siendo algunas de éstas blanco mate, de aspecto yesoso, y otras blanco sucio. Las colonias aparecen como hundidas en la gelatina. El centro de la colonia toma después un color más ó menos rojizo, y empieza la licuación del medio circundante, que avanza en días sucesivos sin llegar á ser total.

Colonias en agar.—Caracteres análogos á las colonias de gelatina en los primeros días. Luego se ven formadas por zonas concéntricas; unas, con el centro blanco mate y la zona externa blanco sucio; otras, con varias líneas circulares concéntricas, alternando las de color blanco sucio con las de color blanco yesoso, que llevan los filamentos esporíferos. Las colonias más ó menos redondeadas están levantadas sobre la superficie del medio; la cara inferior es amarillenta, y después anaranjada en el centro y blanco amarillenta en el borde. Los filamentos esporíferos que recubren

la cara superior de la colonia, son de aspecto ceniciento en el centro y blanco en el borde; la cara inferior, anaranjada en el centro, adquiere después de veinte ó treinta días un color violeta sucio en algunas colonias. Otras veces la cara inferior tiene un aspecto parecido al de un cráter.

Gelatina (picadura).—Pequeñas colonias de aspecto coposo cuando están aisladas y de color blanquecino á lo largo de la picadura. Cuando confluyen, forman una cinta amarillenta arrugada, que termina superficialmente en un botoncito de color blanco en unos sitios y rojizo en otros. Aparecen á los seis ú ocho días manchas rojizas en algunos puntos del canal de la picadura, que después confluyen y dan á la cinta un color rojo ladrillo vivo. El botón superficial va hundiéndose poco á poco, indicando un principio de licuación de la gelatina. Después la licuación aumenta, permaneciendo transparente y sin enturbiamiento alguno la gelatina licuada en totalidad y hundida en el liquido la cinta formada por la colonia.

Gelatina (estría).—Estría blanco sucia, de borde ondulado, algo hundida en el medio de cultivo, indicando un principio de licuación. Después la colonia se hunde más profundamente en el medio, y la cinta formada tiene un color rosáceo en la zona media con eflorescencias blanquecinas, á la cual rodea una línea más roja sin eflorescencia alguna; el borde de la colonia es amarillento. La gelatina licuada es transparente, y la cinta formada por la colonia, se conserva íntegra en el interior de la gelatina.

Agar (picadura).—Colonia redondeada de color blanco amarillento en el canal de la picadura; botoncito saliente blanco mate, por los filamentos esporíferos, y de color rojizo en algunos puntos. A los seis ú ocho días, la colonia superficial rugosa presenta una tinta azulada en el centro y los bordes blancos algo rosados y festonados. El agar que rodea á la colonia, se tiñe ligeramente de azul al cabo de doce ó catorce días, haciéndose más intensa esta coloración azulado sucia á los veinte ó treinta días en la superficie y presentando color violeta en las capas subyacentes.

Agar (estría).—Colonias redondeadas que se unen ó fusionan formando un barniz blanquecino en algunos puntos y en otros más ó menos rosado ó rojizo, con eflorescencias blanco-yesosas á trechos, constituídas por los filamentos esporíferos. A los seis días, la colonia ha adquirido un tono de color azul con reflejos violáceos, que se aprecian bien en el fondo de la colonia, es decir,

en la parte que se halla en contacto con el agar. Este adquiere también una coloración azul, más visible si se mira por transparencia, alrededor de la colonia. Después la porción de la misma, que se halla en contacto con el agar, es francamente azulada, y más tarde añil. Entre los filamentos esporíferos, se observan á veces pequeñas gotas como puntitos de color azul oscuro, casi negro. Por envejecimiento, la superficie se recubre de un polvillo ceniciento.

Suero de sangre.—Colonias confluentes puntiformes y de color blanco sucio algo amarillento. Después la colonia adquiere un tono gris azulado sucio y no es licuado el suero. El color azul se hace más intenso y oscuro en los días siguientes.

Caldo.—Colonias aisladas de aspecto coposo y color blanquecino, sin enturbamiento del caldo, depositadas la mayor parte en el fondo del tubo, algunas del mismo aspecto adheridas á las paredes y otras en la superficie del líquido ligeramente rosadas.

Leche.—Coloración ligeramente rosácea en la superficie, que se acentúa en días sucesivos, sobre todo en los bordes, donde forma un anillo más intensamente coloreado que en el centro. A los seis ú ocho días se coagula la leche en masa homogénea, y en el borde rosado presenta manchas rojizas y á veces violáceas. El coágulo es licuado después, primero en las capas superiores y luego en las profundas; el anillo superficial se torna azulado y algunas veces el líquido adquiere un color gris sucio.

Patata.—Desarrollo granuloso, blanquecino amarillentó, primero; luego, blanco rosado; después, de color rosa más pronunciado; más tarde, rojizo con manchas blanquecinas, salientes, formadas por los filamentos esporíferos. El color rojo desaparece más tarde, y se inicia en algunos puntos una coloración amarillento verdosa, y luego verde sucio, que se extiende á la patata. Esta se tiñe de azul al cabo de cuarenta ó cincuenta días, y entonces la colonia principal es unas veces azul oscuro, casi negro, con manchas blanquecinas ó cenicientas; otras, presenta el borde rojizo y manchas blancas, parduzcas, cenicientas, rojizas, violáceas y verdes en diferentes puntos de la colonia, y en ocasiones se forman alrededor de la principal otras más pequeñas, aisladas, de color rosado, con el borde blanquecino, que se destacan sobre la superficie azul de la patata. La colonia es muy rugosa y consistente. En algunos casos hay también desarrollo en el líquido alcalino del fondo; líquido que se tiñe de color violeta y se

puebla de colonias blancas violáceas en la superficie y en el fondo.

Esta especie fué encontrada en el limo de la presa del Villar (Lozoya).

Sacharomyces roseus. Madrid Moreno.—*Levadura rosa*, de otros autores.

Aspecto microscópico.—Células generalmente ovaladas, algunas con un mucroncito en uno de sus extremos; las células jóvenes presentan también la forma oval, pero alargada; las formas esféricas son raras. Se coloran cuando jóvenes por el método de Gram; las células viejas quedan unas coloreadas, y otras no. Reprodúcense por gemmación.

Colonias en gelatina.—Visibles á las cuarenta y ocho horas como puntitos transparentes ó semitransparentes; observadas á 100 diámetros, son circulares, de borde liso y estructura granular gris amarillentas. En las más desarrolladas se distingue un ligerísimo tinte rosa. Al cuarto día alcanzan un milímetro de diámetro, son de color rosa claro y el centro levantado; zona periférica, formada por esferitas refringentes incoloras. A los doce días las colonias son de color rosa bien definido; las mayores, de unos tres milímetros de diámetro.

Colonias en agar.—Desarrollo á 22°. A los cuatro días, colonias circulares de color rosa. Las profundas lenticulares y las superficiales, con el borde formado por esferitas incoloras, presentándose algo levantadas sobre la superficie. A los doce días han alcanzado las mayores unos tres milímetros y medio, circulares, de color rosa bien definido, y superficie lisa y lustrosa.

Gelatina (estría).—De color rosáceo, poco abultado, liso, brillante, más ancho hacia la parte inferior. No liquida.

Gelatina (picadura).—Pequeño botón aplastado y de color rosa; desarrollo escaso en el canal de la picadura en forma de puntos ó esferitas, unas aisladas y confluentes, otras de coloración amarillenta. No se observa peptonización de la gelatina. A los veinte días el botón no llega á cinco milímetros de diámetro.

Agar (estría).—Línea de color rosa, algo abultada, superficie lisa y brillante. En el líquido de condensación se forma un depósito coposo de color rosa.

Agar (picadura).—Botón liso, brillante y circular, poco abultado; canal con escaso desarrollo en forma de puntitos amarillentos, confluentes ó aislados en el fondo.

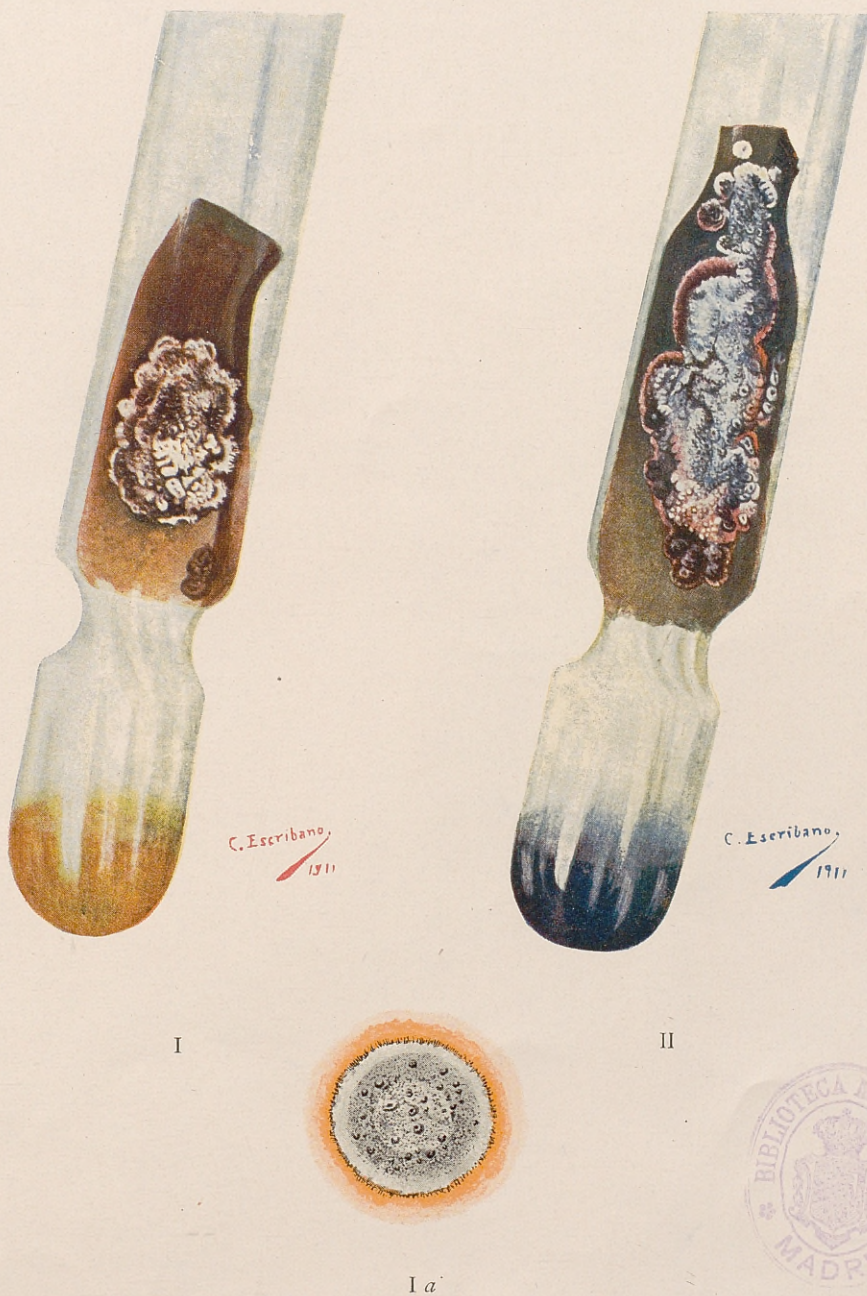
Caldo.—Enturbiamiento no muy pronunciado y formación de un velo muy tenue en la superficie; depósito blanco ligeramente rosáceo, coposo; caldo algo viscoso. A los veinte días es transparente, sedimento color rosa, que por agitación se enturbia fuertemente, sin colorearse.

Patata.—Abundante y rápido desarrollo de color rosa escarlata, saliente y rugoso, en forma de mamelones. Granulaciones repartidas en series lineales ó irregularmente espaciadas. A los veinte días la superficie es granuda.

Suero de sangre.—Estría de color rosa vivo, limitada al trazo de siembra. No liquida el medio.

Leche.—A los pocos días se forma un anillo de color débilmente rosáceo en el borde, color que se extiende luego por la superficie del líquido. El medio no es coagulado al cabo de diez días. A los veinte se convierte en un magma homogéneo, sin separación del suero.

Encontrada en el Viaje de la Reina.



I. *Cladothrix aurantiaca*: Cultivo en patata.—I a. *Cladothrix aurantiaca*: Colonia en agar.—II. *Cladothrix versicolor*: Cultivo en patata.



L. 711-3. FM/780





67 849

Adiciones á la flora bacteriana de las aguas potables de Madrid

POR

J. MADRID MORENO

(Lámina II.)

En otro trabajo publicado por esta Sociedad (1), hice la descripción de todas aquellas especies de bacterias que había encontrado en las aguas de esta Capital, como resultado de una larga labor que hace años vengo realizando en las mismas. Siendo realmente corto el número de publicaciones dedicadas á la descripción de aquéllas y en distintos idiomas, así como monografías y trabajos sueltos, á éstos he tenido que acudir para las clasificaciones. Muchas de las descripciones hechas por los primitivos autores, carecen de algunos caracteres importantes para su identificación, cosa que nada tiene de extraño, tratándose de períodos en que la bacteriología estaba en sus comienzos, por decirlo así. El progreso de esta rama ha hecho, no sólo poner á su servicio una técnica más ampliada y precisa, sino que dado el número de especies, se imponía desde luego una clasificación que estuviera en armonía con las empleadas en las Ciencias naturales. Así, pues, todas las especies que en mi anterior memoria he descrito, como las que reseño en la actual, han sido encontradas, aisladas y estudiadas detenidamente en el trabajo diario que se realiza en la Sección de bacte-

(1) *Contribución á la flora bacteriana de las aguas potables de la villa de Madrid*, tomo III, Memoria 2.^a, 1905.

riología del Laboratorio municipal de Higiene de esta Capital. Se han podido añadir nuevos caracteres á bastantes especies y hallar otras, cuya descripción no había sido reseñada en trabajos ya publicados. No dudo que existirán pormenores que rectificar en las descripciones que hacemos; pero esta labor sólo podrá corregirse en el transcurso del tiempo, y cuando otros autores confirmen y pulimenten las observaciones realizadas por los demás.

Nos hemos servido para las clasificaciones, de las obras de Macè, Migula, Matzuschita, Eisenberg, etc., bibliografía ya citada en mi anterior trabajo. Me es muy grato el significar, que para la confección de los adjuntos cuadros de clasificación, he tenido la ayuda de los Sres. Remis, Utande y Estébanez, profesores de dicho Laboratorio, los cuales han confirmado también en sus observaciones muchas de las especies descritas por mí, como asimismo el Sr. Escribano, conservador del Museo de Ciencias naturales, el cual generosamente se ha prestado á realizar algunos de los dibujos que acompañan á esta Memoria.

GÉNEROS.

Micrococcus.

(Cultivos en gelatina).

I. Colonias blancas ó grises

- | | | | | |
|---------|---|-------------------|---|--|
| A..... | { | No liquidantes... | { | <i>M. concentricus</i> , <i>M. cereus albus</i> , <i>M. can-</i> |
| | | Gram. positivo... | | <i>dicans</i> , <i>M. stelatus</i> . (<i>M. uræ</i>) |
| B. | { | Liquidantes..... | { | <i>M. coronatus</i> , <i>M. albus</i> , <i>M. albinus</i> . |
| | | Gram. positivo... | | |

II. Colonias amarillas ó amarillentas.....

- | | | |
|--------------------|------------------|--|
| A. No liquidantes. | Gram. positivo.. | <i>M. flavus tardigradus</i> , <i>M. luteus</i> . |
| B. Liquidantes... | Gram. positivo.. | <i>M. flavus desidens</i> , <i>M. flavus liquefa-</i>
<i>ciens</i> , <i>M. radiatus</i> , <i>M. cremoides</i> . |

III. Colonias rojas ó rosadas.....

- | | | |
|--------------------|------------------|--|
| A. No liquidantes. | Gram. positivo.. | <i>M. cinnabareus</i> , <i>M. cerasinus siccus</i> . |
| B. Liquidantes... | Gram. positivo.. | <i>M. subroseus</i> . |

Sarcinas.

(Cultivos en gelatina).

I. Colonias amarillas ó amarillentas.....

- | | | |
|------------------|------------------|---|
| Liquidantes..... | Gram. positivo.. | <i>S. lutea</i> , <i>S. luteola</i> , <i>S. flava</i> . |
|------------------|------------------|---|

Colonias rojas... ..

- | | | |
|------------------|------------------|------------------------|
| Liquidantes..... | Gram. positivo.. | <i>S. aurantiaca</i> . |
|------------------|------------------|------------------------|

*

Micrococcus ureae Pasteur.

Coccus grandes, generalmente reunidos en diplococcus, tetradas ó cadenas. Resiste al Gram. Inmóvil.

Colonias en gelatina.—Pequeñas, de un aspecto blanco nacarado, superficie lisa y borde perfectamente delineado. Cuando envejecen, ofrecen el aspecto de una gota de estearina. Vistas al microscopio son granulosas. Noliquidan. Las colonias en agar son opacas, observándose que después de diez ó doce días de cultivo, ofrecen su mayor tamaño en este medio.

Gelatina (estria).—Estrato blanco porcelanáceo, desarrollado á lo largo de la línea de siembra, sin llegar á las paredes del tubo.

Gelatina (picadura).—Pequeño botón, de un aspecto semejante al anterior, redondeado, liso, con el centro un poco levantado. Desarrollo en el canal de la picadura.

Agar (estria).—Cultivo muy semejante al de gelatina, tanto en aspecto como en desarrollo.

Agar (picadura).—Igual que en gelatina.

Suero de sangre.—Se desarrolla bien, destacándose perfectamente su crecimiento. Agua de condensación ligeramente turbia, sedimento blanco. (En los medios sólidos el cultivo es mucoso.)

Caldo.—Ligero enturbiamiento. Sedimento blancuzco que al agitarse es filamentososo, levantándose en masa.

Agua de peptona.—Aspecto y caracteres igual al anterior. No da indol.

Patata.—Es característico; se desarrolla formando gotas semejantes á las de rocío, que cuesta trabajo distinguirlas á simple vista, por confundirse su aspecto y transparencia con el color de la misma. Saprofito.

Descompone la urea en carbonato amónico. El mejor medio de cultivo para comprobarlo es el ideado por Jacksch, y que se compone de $\frac{1}{16}$ gramo de sulfato magnésico, $\frac{1}{8}$ gramo de fosfato ácido de potasa, 5 gramos de tartrato sódico potásico y 5 gramos de urea, en un litro de agua. Basta también una pequeña dosis de urea en agua esterilizada, para percibir á los pocos días el olor amoniacal. Encontrada esta especie en el viaje Bajo Abroñigal.

Sarcina luteola (Gruber).

Colonias en gelatina.—De color amarillo, llegan á alcanzar á simple vista, cerca de un centímetro de diámetro. Observadas al microscopio están constituidas por gruesas granulaciones, siendo

los bordes sinuosos y desiguales y el centro levantado. No liquidan la gelatina.

Gelatina (estría).—Desarrollo abundante que no alcanza las paredes del tubo. Estría festonada en los bordes. Sedimento en el agua de condensación, pero sin enturbiarla.

Gelatina (picadura).—Botón levantado, de bordes irregulares, centro elevado, no llegando á alcanzar las paredes del tubo. En el canal de la picadura finas granulaciones.

Agar (estría).—El aspecto del cultivo es semejante al de la gelatina, pero el desarrollo es más abundante.

Agar (picadura).—Otro tanto sucede en esta disposición del cultivo, llegando el estrato á alcanzar las paredes del tubo.

Suero de sangre gelatinizado.—Se desarrolla con abundancia en este medio, liquidándolo lentamente.

Leche.—No la coagula. Ligeramente ácida.

Caldo.—Lo deja completamente limpio. Sedimento amarillo.

Agua peptonizada.—Los caracteres del cultivo son iguales al anterior. No produce indol.

Patata.—Desarrollo abundante. Estrato seco, levantado, de bordes rugosos y festonados. Forma paquetes en todos los medios.

Encontrada en las aguas del viaje de la Castellana.

Bacillus cruentatus sp. nov. Madrid Moreno.

Bacilos con movimiento.—Se descoloran por el método de Gram. Materia colorante soluble en alcohol, cloroformo y agua.

Aspecto microscópico.—Bacilos cortos y gruesos, extremidades redondeadas, presentando la forma de *coccus*, los cuales se unen dos á dos y alargándose toman forma de 8, hasta formar un solo individuo, el cual se estrecha un poco hacia su parte media. Otros constituyen filamentos (patata).

Se presentan desde la forma de *coccus* á la de cortos filamentos, y cadenas de dos á tres *coccus* (agar).

Colonias en gelatina.—Antes de las cuarenta y ocho horas aparecen á simple vista, formando pequeñísimas granulaciones. Al microscopio son redondeadas, con más ó menos regularidad, la periferia delgada y fina, la parte central granulosa de un color ligeramente anaranjado. Se rodean de un anillo de liquefacción que rápidamente se extiende por toda la placa liquidándola en seguida. A las setenta y dos horas toda la placa se ha liquidado, flotando parte de las colonias rojizas así como sus fragmentos, cons-

**

Como se ve, las formas de involución son aquí muy frecuentes; pero lo general es que se presente en bastones de extremos redondeados de 0,5 μ de grueso por 1,25 μ de largo, teniendo los elementos gruesos y largos un estrechamiento hacia el centro, á modo de estrangulación, perfectamente visible cuando están coloreados, sobre todo si lo son por el *azul cotton*, y que posee la doble ventaja de teñirlos más intensamente que la materia orgánica que suele acompañarlos y permitir así su mejor diferenciación. Débese este método de coloración á Feltz, que opera del siguiente modo: después de secar al aire la preparación, sin actuar el calor, y hecha sobre un cubre con el cultivo diluído en agua, se fija con una solución á partes iguales de alcohol-éter; se deja evaporar ésta y se tiñe durante cinco minutos con solución saturada y acuosa de *azul cotton*, tratando en seguida por una solución saturada de ácido láctico, y, por fin, lavando con agua para montar en ésta y examinar en seguida, pues las preparaciones así teñidas no pueden conservarse, porque se descoloran. Tiene este bacilo la propiedad de quedar coloreado por el método de Gram, á condición de operar sobre cultivos de poco tiempo, pues los que ya tienen varios días, ó se descoloran por completo ó lo hacen parcialmente.

Posee apéndices vibrátiles bien patentizables por cualquiera de los métodos para la coloración de esta clase de pestañas; pero con el de Van Ermenghen se obtienen resultados muy superiores, mostrándolos numerosos sobre toda la superficie del bacilo, muy largos y rizosos.

Caracteres de los cultivos.—Se cultiva bien sobre todos los medios, desarrollándose rápidamente lo mismo en aerobio que en anaerobio y aun á temperaturas muy bajas, siendo las más convenientes las comprendidas entre 34 y 37° c.

Colonias en placas con gelatina.—A las cuarenta y ocho horas de cultivo, y á 22° c., presentan, por lo común, un aspecto característico. No conteniendo el medio sino 5 por 100 de gelatina, se observa que las colonias incluídas en la misma, examinadas con poco aumento, son redondas, amarillentas, casi transparentes, rodeándose muy pronto de círculos concéntricos, de los que parten en todos sentidos prolongaciones abundantes, dotadas de movimientos de emigración bien apreciables; estas expansiones sinuosas y tortuosas en tirabuzones, de diámetro desigual, están formadas por el acoplamiento, al parecer, como de nudos, de mo-

nedas ó discos ovoideos y de diferentes tamaños, que invaden por completo todo el medio y encuéntrase frecuentemente muy alejados de la primitiva colonia.

Otros comparan estas colonias á las *medusas* formadas por numerosos filamentos que parten de la colonia madre, y que, situadas en diferentes planos, dan la ilusión del astro solar con sus correspondientes rayos.

Las colonias superficiales son, por regla general, gris-azuladas á simple vista, de bordes irregulares; pero que, miradas con poco aumento, no aparecen formadas sino por prolongaciones uniformes, sin la distinción tan característica de las anteriores. La fluidificación de la gelatina se opera rápidamente.

Gelatina por picadura.—Liquidación rápida del medio, que al principio se hace en forma de copa, llegando en seguida á las paredes del tubo, y continuando desde este instante por igual hacia abajo; el líquido formado es ligeramente turbio, de reacción alcalina y con sedimento abundante gris blanquecino. Desprende olor penetrante de putrefacción.

Gelatina por estria.—Nada característico se puede apreciar, si no es la rápida liquidación del medio con formación de un surco profundo todo á lo largo de la línea sembrada; el resto de los caracteres, como en el anterior.

Agar por estria.—Colocado en la estufa á 37°, se observa á las veinticuatro horas que toda la superficie del medio está recubierta de un estrato mucoso de color grisáceo, algo blanquecino y de aspecto húmedo.

Si se añaden á 1.000 gramos de este medio unas 20 gotas de ácido láctico de 1,245 de densidad y se siembra el bacilo, colocándolo después en las mismas condiciones, verificase el desarrollo muy lentamente, y sólo al cabo de algunos días se logran ver muy pequeñas colonias de contornos irregulares y formando cadenas, cuyo eje es la línea de siembra.

Patata.—A 37° se obtiene desarrollo escaso, casi limitado á la línea de siembra y de color blanco-amarillento al principio, y parduzco después.

Caldo.—Este medio y á 37° es el que mejor le conviene; en él se desarrolla abundantemente con producción de numerosos copos, que al fin se sedimentan, formando abundante depósito. No forma velo en la superficie, y si se desprende amoníaco.

Si al medio se agrega azufre, hay gran producción de hidrógeno

la cara superior de la colonia, son de aspecto ceniciento en el centro y blanco en el borde; la cara inferior, anaranjada en el centro, adquiere después de veinte ó treinta días un color violeta sucio en algunas colonias. Otras veces la cara inferior tiene un aspecto parecido al de un cráter.

Gelatina (picadura).—Pequeñas colonias de aspecto coposo cuando están aisladas y de color blanquecino á lo largo de la picadura. Cuando confluyen, forman una cinta amarillenta arrugada, que termina superficialmente en un botoncito de color blanco en unos sitios y rojizo en otros. Aparecen á los seis ú ocho días manchas rojizas en algunos puntos del canal de la picadura, que después confluyen y dan á la cinta un color rojo ladrillo vivo. El botón superficial va hundiéndose poco á poco, indicando un principio de licuación de la gelatina. Después la licuación aumenta, permaneciendo transparente y sin enturbiamiento alguno la gelatina licuada en totalidad y hundida en el líquido la cinta formada por la colonia.

Gelatina (estría).—Estría blanco sucia, de borde ondulado, algo hundida en el medio de cultivo, indicando un principio de licuación. Después la colonia se hunde más profundamente en el medio, y la cinta formada tiene un color rosáceo en la zona media con eflorescencias blanquecinas, á la cual rodea una línea más roja sin eflorescencia alguna; el borde de la colonia es amarillento. La gelatina licuada es transparente, y la cinta formada por la colonia, se conserva íntegra en el interior de la gelatina.

Agar (picadura).—Colonia redondeada de color blanco amarillento en el canal de la picadura; botoncito saliente blanco mate, por los filamentos esporíferos, y de color rojizo en algunos puntos. A los seis ú ocho días, la colonia superficial rugosa presenta una tinta azulada en el centro y los bordes blancos algo rosados y festonados. El agar que rodea á la colonia, se tiñe ligeramente de azul al cabo de doce ó catorce días, haciéndose más intensa esta coloración azulado sucia á los veinte ó treinta días en la superficie y presentando color violeta en las capas subyacentes.

Agar (estría).—Colonias redondeadas que se unen ó fusionan formando un barniz blanquecino en algunos puntos y en otros más ó menos rosado ó rojizo, con eflorescencias blanco-yesosas á trechos, constituidas por los filamentos esporíferos. A los seis días, la colonia ha adquirido un tono de color azul con reflejos violáceos, que se aprecian bien en el fondo de la colonia, es decir,

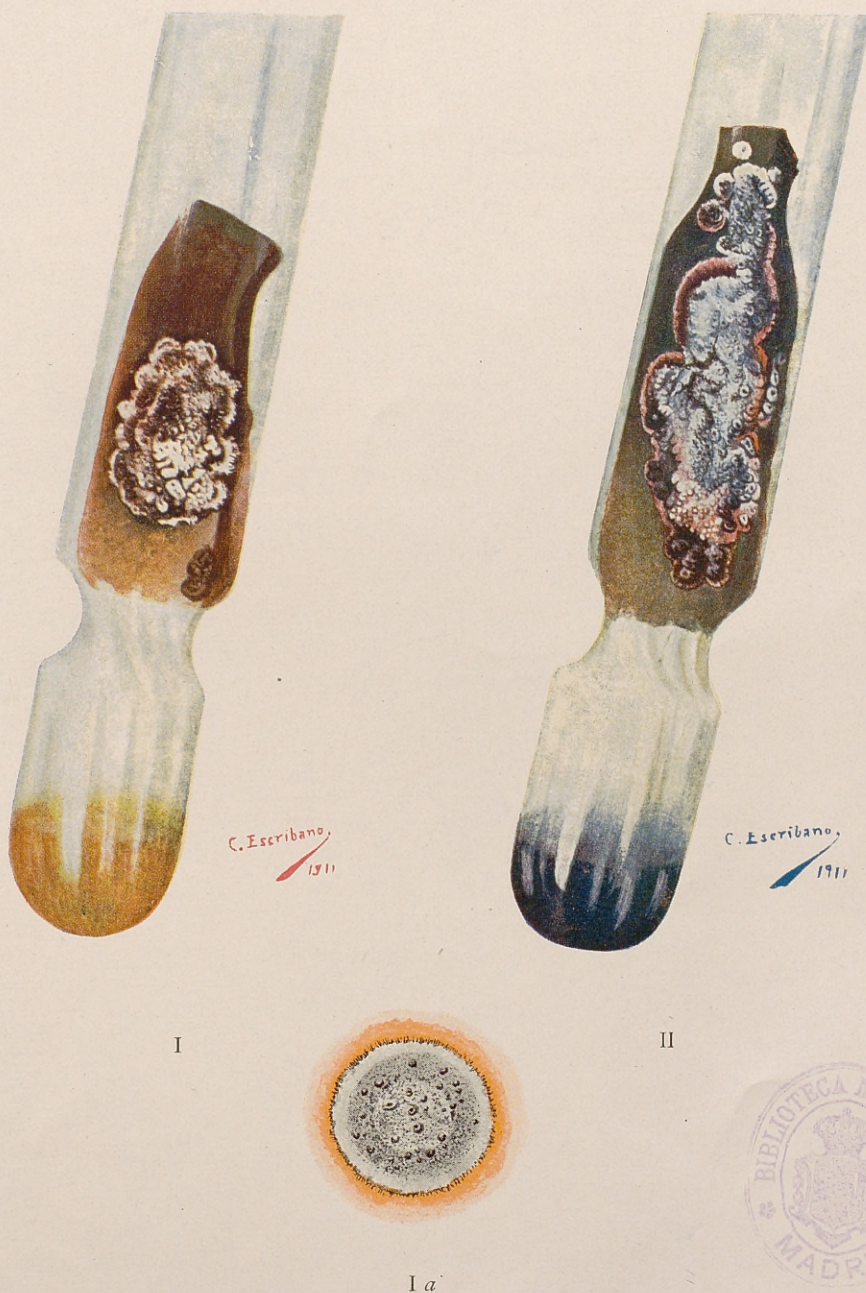
en la parte que se halla en contacto con el agar. Este adquiere también una coloración azul, más visible si se mira por transparencia, alrededor de la colonia. Después la porción de la misma, que se halla en contacto con el agar, es francamente azulada, y más tarde añil. Entre los filamentos esporíferos, se observan á veces pequeñas gotas como puntitos de color azul oscuro, casi negro. Por envejecimiento, la superficie se recubre de un polvillo ceniciento.

Suero de sangre.—Colonias confluentes puntiformes y de color blanco sucio algo amarillento. Después la colonia adquiere un tono gris azulado sucio y no es licuado el suero. El color azul se hace más intenso y oscuro en los días siguientes.

Caldo.—Colonias aisladas de aspecto coposo y color blanquecino, sin enturbamiento del caldo, depositadas la mayor parte en el fondo del tubo, algunas del mismo aspecto adheridas á las paredes y otras en la superficie del líquido ligeramente rosadas.

Leche.—Coloración ligeramente rosácea en la superficie, que se acentúa en días sucesivos, sobre todo en los bordes, donde forma un anillo más intensamente coloreado que en el centro. A los seis ú ocho días se coagula la leche en masa homogénea, y en el borde rosado presenta manchas rojizas y á veces violáceas. El coágulo es licuado después, primero en las capas superiores y luego en las profundas; el anillo superficial se torna azulado y algunas veces el líquido adquiere un color gris sucio.

Patata.—Desarrollo granuloso, blanquecino amarillentó, primero; luego, blanco rosado; después, de color rosa más pronunciado; más tarde, rojizo con manchas blanquecinas, salientes, formadas por los filamentos esporíferos. El color rojo desaparece más tarde, y se inicia en algunos puntos una coloración amarillento verdosa, y luego verde sucio, que se extiende á la patata. Esta se tiñe de azul al cabo de cuarenta ó cincuenta días, y entonces la colonia principal es unas veces azul oscuro, casi negro, con manchas blanquecinas ó cenicientas; otras, presenta el borde rojizo y manchas blancas, parduzcas, cenicientas, rojizas, violáceas y verdes en diferentes puntos de la colonia, y en ocasiones se forman alrededor de la principal otras más pequeñas, aisladas, de color rosado, con el borde blanquecino, que se destacan sobre la superficie azul de la patata. La colonia es muy rugosa y consistente. En algunos casos hay también desarrollo en el líquido alcalino del fondo; líquido que se tiñe de color violeta y se



I. *Cladothrix aurantiaca*: Cultivo en patata.—I a. *Cladothrix aurantiaca*: Colonia en agar.—II. *Cladothrix versicolor*: Cultivo en patata.





