

Los microorganismos del género *Pasteurella*.

I. LOS CARACTERES DE CULTIVO

Por E. SAVINO, A. ALDAO y B. ANCHEZAR

El presente trabajo tiene por objeto presentar un estudio de conjunto de los caracteres culturales y fisiológicos de los microorganismos pertenecientes al género *Pasteurella*. La finalidad de este trabajo ha sido la de revisar los datos consignados en la literatura y hallar un método fácil para diferenciar *Pasteurella pestis* y *P. pseudotuberculosis* de las demás especies del mismo género *Pasteurella*.

I. — ANTECEDENTES

En la literatura son innumerables los trabajos existentes sobre este tema. Uno de los primeros es el de Hueppe (1886), quien observa que las bacterias de la septicemia hemorrágica de diferente origen poseen propiedades biológicas semejantes. Priesz (1894) comprueba la identidad de los microorganismos descritos por Malassez y Vignal (1883) y por Pfeiffer (1890) y conocidos actualmente como *Pasteurella pseudotuberculosis*. Voges y Proskauer (1898) agrupan las pasteurelas en 4 tipos de acuerdo a sus caracteres de cultivos. Lignières (1900) adopta el nombre de *Pasteurella* dado por Trevisan (1887) y define algunos caracteres del género. Galli-Valerio (1903) establece similitud entre los caracteres morfológicos y culturales del microorganismo de la peste y el de la pseudotuberculosis. Vourland (1908) establece algunos caracteres culturales de las bacterias de este género. Un estudio del mismo carácter realiza Schirop (1908). Mac Conkey (1908) estudia algunos caracteres culturales de la *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* y preconiza para su diferenciación el medio nutritivo a base de leche tornasolada.

La Comisión de la India para el estudio de la peste (1908) estudia también las propiedades culturales de estas dos especies de bacterias

Recibido para publicarse en agosto de 1939.

y observa que *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* son las únicas especies de pasteurelas capaces de crecer en el medio de Mac Conkey con taurocolato de sodio. Magnuson (1914) estudia cepas de pasteurelas de origen bovino y aviario encontrando similitud desde el punto de vista cultural. Wade (1916) encuentra que *P. pestis* no fermenta sorbita y en 3 de los 10 casos obtiene fermentación de la glicerina. Jones (1921) divide a las pasteurelas en 4 grupos según la acción fermentativa sobre los azúcares. Loux (1922) estudia los caracteres de cultivos de los microorganismos agentes de la septicemia hemorrágica aislado de diferentes animales. D'Aunoy (1923) describe la fermentación de la glicerina como una característica para diferenciar *P. pestis* de las demás pasteurelas. Gochenour (1924) estudia una cepa de pasteurela aislada de búfalo y observa que por sus caracteres de cultivo y suerológico no se diferencia de las pasteurelas aisladas de otros animales. Paria (1925) estudia algunos caracteres culturales de la *P. pestis*. Beck y Huck (1925) estudian 6 cepas de pasteurelas de origen aviario.

Csontos (1926) estudia algunos caracteres culturales de 10 cepas de pasteurelas de origen aviario. Otten (1926) estudia el género *Pasteurella* y propone un método para diferenciar las especies de acuerdo con el pH que toman los cultivos cuando se emplean distintas concentraciones de glucosa. Tanaka (1926) estudia 26 cepas de pasteurelas aisladas de diferentes animales y llega a la conclusión de que no es posible diferenciarlas por sus caracteres culturales ni suerológicos. Frohlöse (1926) estudia los caracteres culturales de 44 cepas de pasteurelas de origen aviar, 3 de cunicular y 3 de felino (gatos) y encuentra similitud de los caracteres culturales. Colas-Belcour (1926) propone la fermentación de la glicerina para diferenciar *P. pestis* de *P. pseudotuberculosis*. Meyer y Batchelder (1926) sugieren un medio selectivo apropiado para el desarrollo de *P. pestis*. Pirie (1927) encuentra entre 23 cepas de *P. pestis* 4 que fermentan glicerina. Lorche (1927) estudia algunos caracteres culturales de 9 cepas de origen aviar. Himmelfarb (1927) presenta un medio diferencial para *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* basado en la acción acidificante de los cultivos sobre diferentes concentraciones de maltosa.

Bezsonova y Konovalova (1927) afirman que la acción sobre glicerina no permite diferenciar *P. pestis* de *P. pseudotuberculosis*. Este resultado coincide además con el trabajo de Zlatgorov y Mogilewska (1927), en el cual también se demuestra que la acción sobre maltosa no permite diferenciar a las dos especies citadas. Haupt (1928) observa que *P. pseudotuberculosis* fermenta salicina y propone esta propiedad como carácter diferencial.

Bezsonova (1929) se refiere a la diferente acción de *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* sobre la ramnosa. Iwanowsky y Sassykina (1930) dan como carácter de diferenciación de las dos especies mencionadas la propiedad de reducir el azul de metileno. Moersch y Krogh-Lund (1930) realizan una investigación sobre los caracteres culturales de un gran número de cepas agentes de septicemia hemorrágica en animales y las divide en 6 tipos de acuerdo a sus caracteres de cultivo. Kauffmann (1932) publica un trabajo acerca de los caracteres culturales de las pasteurelas y propone una diferenciación fundada en los caracteres culturales. Uriarte y Morales Villazón (1935) realizan un trabajo sobre los caracteres culturales y la diferenciación de los microorganismos del género *Pasteurella*.

II. — MATERIAL Y MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

Se estudió un total de 18 cepas de *Pasteurella sp. incert.*, 10 cepas de *P. pestis* y 26 cepas de *P. pseudotuberculosis*. Muchas de ellas proceden el Instituto Pasteur de París y del Lister Institute y fueron gentilmente facilitadas por el Dr. I. Pirotsky, al que estamos muy reconocidos. Otras estaban en la colección de la Sección Peste y nos fueron facilitadas por el Dr. N. Morales Villazón, a quien también agradecemos su cooperación. Otras fueron aisladas de ratas grises por nosotros mismos.

Las cepas de *Pasteurellas* que estudiamos tienen las siguientes denominaciones: « *suiséptica* Gaiger 1737 », « *boviséptica* 01448 N° 929 », « rabbit 105 N° 2417 b », « guinea pig 2484 », « *suiséptica* Sutherland 1738 », « De Aar », « Beaufort », « Correo Central », « cólera de gallina », « medula rata 15 », « rata 65 », « Lignières », « L. 4 », « medula de rata 2-2 VIII », « rata 479 », « rata 482 », « Arsenal Naval » y « mouse 49, N° 1140 ».

Las cepas de *P. pseudotuberculosis* tienen la denominación siguiente: « Ramón », « Pfeiffer », « rodentium 1779 », « Collaza », « Hombre », « Pavo », « muricida », « poule V », « Mouton (Australia) », « Lapin », « Cobaye », « Homme (pneumonie) », « Dindon », « Homme (Jean) », « Pie (Australia) », « Chat », « canary », « Homme (splenomegalie) », « Singe », « Cocobacille », « rongeurs », « rodentium 1780 », « rodentium 1102 », « rodentium 2402 », « Paró » y « Peruche ».

Finalmente, las cepas de *P. pestis* estudiadas son las siguientes: « E. V. », « Otten », « Pecha », « Auffray », « Kimberley », « Manchuria », « Liboreff », « Alvarez », « Rodriguez » y « Sayavedra ».

El método de investigación y las técnicas utilizadas en este trabajo fueron las siguientes:

1. *Movilidad*. — Para la observación de la movilidad se utilizaron dos métodos: 1° el de observación a 37° y 20° C. en gota pendiente de material de cultivo en caldo y de líquido de condensación de agar estría, y 2° aquel de examinar el desarrollo en placa a 20° C. descrito por Levinthal (1930).

2. *Indol*. — En la investigación de indol hemos utilizado el cultivo de 24 horas de desarrollo a 37° C, en caldo, pH 7.4-7.6 y 5 % de peptona Parke Davis. Al cabo de ese tiempo investigamos indol agregando al cultivo 1 ó 2 ml. de éter y después de agitado agregamos unas gotas del reactivo de Ehrlich.

3. *Formación de H₂S*. — Utilizamos la siembra en caldo con 5 % de peptona Parke Davis y como reactivo papeles impregnados en subacetato de plomo de Horner y Sons (Londres).

4. *Reducción de nitratos en nitritos*. — Se utilizó caldo con 5 % de peptona y 1 ‰ de nitrato de potasio. Después de 5 días de incubación a 37° C. se le agregó 1 ml. de cada una de las siguientes soluciones:

A. α -naftilamina	1 gr
Acido acético d. 1.04	180 ml
Agua.	22 »
B. Acido sulfanílico	0.5 gr
» acético d. 1.04	150 ml

5. *Reacción de la catalasa*. — Se tomó cultivo de 24 horas de desarrollo en agar estría a 37° C. y al cabo de ese tiempo se le agregó 1 ó 2 ml. de agua oxigenada.

6. *Leche tornasolada*. — A tubos con 10 ml. de leche esterilizada se le agregó 0.4 ml. de tintura de tornasol de Schering-Kahlbaum (Berlín) esterilizada por calentamiento de 1 hora a 100° C.

7. *Reacción del rojo de metilo*. — Se utilizó el siguiente medio de cultivo:

Bactopeptona « Difco »	5 grs
Cloruro de sodio	5 »
Agua destilada	1 litro
pH 7.4-7.6	

Una vez esterilizado en autoclave 15 minutos a 115° C. se le agregó una solución estéril de glucosa para tener una concentración al 1 %. Después de 3 días de incubación a 37° C. se le agregó unas gotas de una solución de rojo de metilo al 0.04 %.

8. *Reacción de Voges-Proskauer.* — Hemos empleado el mismo medio utilizado para la reacción del rojo de metilo y los cultivos fueron incubados a 37° C. durante 2 días, y entonces se investigaba la formación de acetil-metil-carbinol por el agregado de 1 ml. de KOH al 10 %.

9. *Formación de amoníaco.* — Las bacterias fueron sembradas en una solución de peptona al 5 % con la misma concentración de cloruro de sodio y después de 5 días de desarrollo a 37° C. se le agregaba algunas gotas del reactivo de Nessler.

10. *Reducción del azul de metileno.* — Se ensayó con cultivo, en caldo con peptona Parke Davis, de 24 horas de desarrollo a 37° C. y por el agregado de una gota de una solución acuosa de azul de metileno al 1 %. Después de varias horas de incubación a 37° C. se observaba si es que había o no reducción del colorante.

11. *Fermentación de glicerina en el medio de Stern.* — Se preparó el medio utilizado por Stern (1916) y que consiste en lo siguiente:

Agua	1 litro
Peptona Parke Davis	20 grs.
Extracto de carne	10 »
Cloruro de sodio	5 »

La peptona, el extracto de carne y el cloruro de sodio son disueltos en agua, a pH 8.0, por calentamiento, y se filtra por papel. A cada 100 ml. del filtrado se agrega 10 ml. de glicerina Price, 5 ó 6 gotas de una solución alcohólica saturada de fuchsina básica y 2 ml. de una solución de sulfito de sodio al 10 % recientemente preparada. Se esteriliza en autoclave por calentamiento a 115° C. durante 15 minutos.

12. *Cultivo en gelatina.* — Las bacterias fueron sembradas en gelatina por punción y se incubó a 37° C. durante 5 días con objeto de conocer si estos microorganismos licuaban la gelatina.

13. *Desarrollo en el medio de Mac Conkey.* — El medio se preparó de acuerdo con la técnica descripta por Wilson (1935).

Taurocolato de sodio	5 grs
Bacto-peptona « Difco »	20 »
Cloruro de sodio	5 »
Agar lavado	20 »
Agua destilada	1 litro

Estas sustancias se disuelven por calentamiento a 100° C. y se lleva a pH 7.8 una vez enfriado a 50° C. Luego para cada 3 litros de medio de cultivo se agrega la albúmina de un huevo y se calienta en autoclave a 115° C. durante 15 minutos. Se filtra por papel y se lleva el filtrado a pH 7.3 después de enfriado a 50° C. Finalmente para cada litro se agrega 10 grs. de lactosa y 10 ml. de rojo neutro al 1 %; se distribuye en tubos de ensayo, se esteriliza a 115° C., 15 minutos, y se inclinan los tubos para sembrarlos en superficie.

14. *Fermentación de hidratos de carbono.* — Los ensayos se realizaron mediante el empleo del siguiente medio:

Bactopeptona « Difco »	5 grs
Cloruro de sodio	5 »
Agua	1 litro

El medio se llevó a pH 7.4 7.6 y se esterilizó a 115° C., 15 minutos. A cada 100 ml. de esta solución de peptona se agregó 0.4 ml. de una solución acuosa de bromo cresol-púrpura al 1 % y 5 ml. de la solución del hidrato de carbono al 20 % esterilizado por calentamiento a 100° C. durante 1 hora.

Estudiamos la fermentación de las siguientes sustancias: lactosa, glucosa, glicerina, sacarosa, manita, ramnosa, maltosa, rafinosa, inulina, xilosa, arabinosa, dulcita, eritrita, arabitol, manosa, adonita, melecitosa, trealosa, galactosa, sorbita, levulosa, dextrina, salicina y almidón.

III. — RESULTADO

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

1. *Movilidad.* — *Pasteurella pseudotuberculosis* fué la única especie que presentó movilidad por incubación a 20° C. a las 18 horas de desarrollo. De las 27 cepas de *P. pseudotuberculosis* ninguna fué móvil cuando fueron incubadas a 37° C. y por desarrollo en caldo nutritivo; en cambio, 4 cepas presentaron movilidad cuando fueron desarrolladas en estufa a 20° C. Sin embargo por observación del líquido de condensación de un cultivo en agar estría o por el método de Levinthal (a las 18 horas de incubación a 20° C.) 24 de las 27 cepas de *P. pseudotuberculosis* presentaron movilidad. Las únicas cepas inmóviles fueron las denominadas « Pfeiffer », « rongeurs » y « cobaye ».

2. *Indol.* — *Pasteurella pestis* y *P. pseudotuberculosis* fueron las únicas especies de pasteurelas que no dieron formación de indol en los medios de cultivos.

TABLA I

N°	Ensayo realizado	Pasteurella	Peste	Pseudotuber- culosis
1	Movilidad	Inmóvil	Inmóvil	Móvil a 20° C
2	Indol	+	—	—
3	H ₂ S	+	+	+
4	Reducción de nitrato	+	+	+
5	Catalasa	+	+	+
6	Leche tornasolada	Acidifica	Acidifica	Alcaliniza
7	Reacción rojo de metilo	+	+	+
8	Reacción de Voges-Proskauer	—	—	—
9	Producción de NH ₃	+	+	+
10	Reducción del azul de metileno	+	—	+
11	Stern-glicerina	—	—	—
12	Licuefacción de gelatina	—	—	—
13	Medio de Mac Conkey	—	+	+
14	Lactosa	—	—	—
15	Glucosa	+	+	+
16	Glicerina	—	— ó +	+
17	Sacarosa	+	—	—
18	Manita	+	+	+
19	Ramnosa	—	— ó +	+
20	Maltosa	—	+	+
21	Rafinosa	—	—	—
22	Inulina	—	—	—
23	Xilosa	— ó +	+	+
24	Arabinosa	— ó +	+	+
25	Dulcita	—	—	—
26	Eritrita	—	—	—
27	Arabitol	—	—	—
28	Manosa	+	+	+
29	Inosita	—	—	—
30	Adonita	—	—	— ó +
31	Melecitosa	—	—	—
32	Trealosa	— ó +	+	+
33	Galactosa	+	+	+
34	Sorbita	+	+	+
35	Levulosa	+	+	+
36	Dextrina	+	+	+
37	Salicina	—	+	+
38	Almidón	— ó +	+	+

3. *Desprendimiento de H₂S*. — Observamos que todas las pasteurelas desprenden H₂S pero con la particularidad que *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* liberan H₂S lentamente y en menor cantidad que las demás especies de pasteurelas.

4. *Reducción de nitratos en nitritos*. — Todas las cepas de pasteurelas que fueron estudiadas tienen la propiedad de reducir los nitratos en nitritos.

5. *Reacción de la catalasa*. — Observamos que todas las cepas que estudiamos dieron reacción de catalasa positiva.

6. *Leche tornasolada*. — Por incubación a 37° C. observamos que las pasteurelas acidifican ligeramente la leche tornasolada con excepción de *P. pseudotuberculosis*, que alcaliniza.

7. *Reacción del rojo de metilo*. — Todas las cepas de pasteurelas fueron positivas a la reacción del rojo de metilo.

8. *Reacción de Voges-Proskauer*. — Esta reacción fué negativa en todos los casos, es decir, las pasteurelas no forman acetil-metil-carbinol.

9. *Formación de amoníaco*. — Todas las pasteurelas formaron amoníaco a los 5 días de desarrollo en agua de peptona.

10. *Reducción del azul de metileno*. — *P. pestis* fué la única especie de pasteurela que no redujo el azul de metileno; en cambio, las otras especies redujeron rápidamente este colorante.

11. *Fermentación de glicerina en el medio de Stern*. — Las cepas de pasteurelas estudiadas no modificaron este medio por incubación a 37° C. durante 24 horas y después de varios días de desarrollo a temperatura ambiente.

12. *Cultivo en gelatina*. — Ninguna de las cepas de pasteurelas licuó la gelatina.

13. *Desarrollo en el medio de Mac Conkey*. — *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* fueron las únicas especies de pasteurelas que presentaron la particularidad de desarrollar en agar con taurocolato de sodio.

14. *Fermentación de hidratos de carbono*. — En la tabla 1 están consignados los resultados obtenidos de la fermentación de los hidratos de carbono por las diferentes especies de pasteurelas como también las otras propiedades bioquímicas que fueron consignadas anteriormente. La fermentación de los hidratos de carbono se realizó

con formación de ácido y sin producción de gas; en general el pH final fué de 5.4-5.6. Pero en algunos casos el pH llegó a 4.6 a las 24 horas de incubación de los cultivos a 37° C.

IV. — ELUCIDACIÓN

Del resultado de nuestros ensayos diremos que el desprendimiento de H₂S por *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* está de acuerdo nuestra observación con los datos consignados por Topley y Wilson (1937) y en contradicción con los trabajos de Kauffmann (1932) y Schültze (1929).

La sorbita fué fermentada por todas las cepas de pasteurelas pero con la particularidad que la mayor parte de las cepas de *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* acidificaron el medio de cultivo a las 18 horas de incubación a 37° C. (pH 5.4-5.6) y luego alcalinizaron nuevamente el líquido llevándolo a pH inicial 7.6. De las 10 cepas de *P. pestis* estudiadas por nosotros sólo una de ellas (cepa Manchuria) fermentó la glicerina. La ramnosa fué también fermentada por una sola cepa de *P. pestis* (Liboreff).

Como consecuencia de lo consignado en la tabla 1 la diferencia entre *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* con los demás microorganismos del mismo género *Pasteurella* sería fácil utilizando la tabla 2 que nos permite realizar con unos pocos ensayos el diagnóstico de las especies de *Pasteurella*, y demás está decir la importancia que tiene para el diagnóstico de la *P. pestis* de las demás especies del mismo género.

TABLA II

N°	Ensayo	Peste	Pseudotuberculosis	Pasteurella
1	Movilidad	Inmóvil	Móvil a 20° C	Inmóvil
2	Leche tornasolada . . .	Acidifica	Alcaliniza	Acidifica
3	Medio de Mac Conkey . .	+	+	—
4	Reducción del azul de metileno	—	+	+
5	Fermentación de salicina	+	+	—
6	Formación de indol . .	—	—	+

V. RESUMEN

En el presente trabajo se consignan los resultados obtenidos sobre el estudio de los caracteres culturales de los microorganismos pertenecientes al género *Pasteurella*. En la investigación se utilizó 10 cepas de *P. pestis*, 26 cepas de *P. pseudotuberculosis* y 18 de *Pasteurella* *sp. incert.*

Resumiendo nuestras investigaciones diremos lo siguiente:

1. — Para el estudio de la movilidad de las pasteurelas aconsejamos el método de Levinthal o la observación con las bacterias que desarrollan en el líquido de condensación de agar inclinado y por incubación a 20° C. 18 horas.

2. — Todas las especies de pasteurelas desprenden H₂S aunque *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* lo hacen más lentamente y con menor intensidad, hecho que está en contradicción con lo observado por algunos autores.

3. La propiedad de fermentar glicerina o ramnosa no permite diferenciar *P. pestis* de *P. pseudotuberculosis*.

4. — De los microorganismos representantes del género *Pasteurella* sólo *P. pestis* no reduce el azul de metileno.

5. — A pesar de lo que suele encontrarse en la bibliografía, hemos observado que *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis*, en general, fermentan sorbita en las primeras horas de su desarrollo y luego alcalinizan nuevamente el medio de cultivo. Por ese motivo, en este caso, para su mejor observación aconsejamos observar la fermentación por incubación de los cultivos a 20-22° C.

6. — Presentamos un cuadro que puede ser de utilidad cuando se quiere diferenciar *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* de las demás especies del mismo género *Pasteurella*.

VI. — CONCLUSIONES

Los microorganismos del género *Pasteurella* se caracterizan por tener comunes los siguientes caracteres: Son cocos ovoides, Gram negativo, y de coloración bipolar. Desprenden H₂S y la reacción de catalasa es positiva. No licúan la gelatina, no forman acetil-metil-carbinol y fermentan los hidratos de carbono con formación de ácido y sin producción de gas. Fermentan glucosa, manita, manosa, galactosa, sorbita y levulosa. No fermentan lactosa, rafinosa, inulina, dulcita, eritrita, inosita y melecitosa.

La diferenciación de *P. pestis* y *P. pseudotuberculosis* de las demás especies del mismo género es una tarea fácil si se utilizan los caracteres de movilidad, modificación de la leche tornasolada, crecimiento en el medio de Mac Conkey, reducción del azul de metileno, la fermentación de salicina y la formación de indol.

BIBLIOGRAFIA

1. D'AUNOY, R. 1923. *Journ. Inf. Dis.*, 33: 391.
2. BECK, A., y HUCK, W. 1925. *Zblat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 95: 330-339.
3. BEZSONOVA, A. 1929. *Rev. de Microb. d'épid. et de parasit.*, 8 (4): 486-487.
4. BEZSONOVA, A., y KONOVALOVA, S. 1927. *Comptes Rendus du Premier Congrès Antipesteux de l'U. R. S. S. Saratov.*, 483-484.
5. COLAS-BELCOUR, J. 1926. *Comp. rend. Soc. de Biol.*, 94: 238.
6. CSONTOS, J. 1926. *Zblat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 97:178-181.
7. FROHBÖSE, H. 1926. *Zblat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 100: 213-218
8. GALLI-VALERIO. 1903. *Zblat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 33.
9. GOCHENOUR. 1924. *Journ. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 65: 433.
10. HAUPT. 1928. *Zblat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 109.
11. HIMMELFARB, J. K. 1927. *Zblat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 103: 39-41.
12. HUEPE. 1886. *Berl. Klin. Wschr.*, 18: 753.
13. IWANOWSKY, N., y SASSYKINA, P. 1930. *Revue de Microb. d'épid. et parasit.* 9 (1): 132-133. *Zblat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 117:535-539.
14. JONES. 1921. *Journ. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 60: 271.
15. KAUFFMANN, F. 1932. *Zeit. f. Hyg.*, 114: 97-105.
16. LAUX. 1922. *Inaug.-Dissert.* Berlín.
17. LERCHE. 1927. *Zblat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 104: 493-520.
18. LEVINHAL, W. 1930. *Zeit. f. Hyg.*, 111: 140-142.
19. LIGNIÈRES, J. 1900. *Bull. Soc. Cent. Med. Vet.*, 54: 329, 389, 469, 524.
20. MAC CONKEY, A. 1908. *Journ. of Hyg.*, 8: 335.
21. MAGNUSSON. 1914. *Zeit. f. Infekt. d'Haust.*, 15: 61.
22. MEYER, K. F., y BATCHELDER, A. P. 1926. *Journ. of Inf. Dis.*, 39: 370-385.
23. MOERCH, J. R., y KROGH-LUND, G. 1930. *Comp. rend. Soc. Biol.*, 105: 319-322 y 1931, *Zeit. f. Hyg.*, 112: 471-491.
24. OTTEN, L. 1926. *Zblat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 98: 482-492.
25. PHILIP, W. M., e HIRST, L. F. 1917. *Journ. of Hyg.*, 15: 527.
26. PIRIE, J. H. H. 1927. *Publ. S. Agr. Inst. Med. Res.*, 3: 85.
27. PONS, R. 1925. *Ann. Inst. Pasteur*, 39: 884-887.
28. PLAGUE RESEARCH COMMISSION IN INDIA. 1903. *Journ of Hyg.*, 8 (2): 302-308.
29. PRIESZ, H. 1894. *Ann. Inst. Pasteur*, 8: 231.
30. STERN. 1916. *Zblat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 78: 481.
31. SHIROP. 1908. *Zblat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 47: 307.
32. SCHÜRZE, H. 1929. *System of Bacteriol. Med. Res. Council*, 4: 446-482.
33. TANAKA, A. 1926. *Journ. Inf. Dis.*, 38: 421-428.
34. TOPLEY, W. W. C., y WILSON, G. S. *The principles of Bacteriology and Immunology*. 2ª Ed., 1936.

35. TREVISAN. 1887. *Rendiconti Reale Inst. Lomb. di Sci. e Let.*, 94.
36. URIANTE, L., y MORALES VILLAZÓN, N. 1935. *Rev. del Inst. Bact.*, 7 (2): 287-296.
37. VOGES y PROSKAUER. 1898. *Zeit. f. Hyg.*, 28: 20.
38. VOURLAND. 1908. *Zitat. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, 45: 96 y 193.
39. WADE, H. W. 1916. *Philipp J. Sci.*, B. II: 159.
40. WILSON, G. S. 1935. *The bact. grad. of milk. Med. Res. Council*, 206: 183.
41. ZLATOGOROV, S. I., y MOKILEWSKAIA, B. I. 1927. *Comp. rend. du Premier Congrès Antipesteux de l'U. R. S. S. Saratov*. 484-485.