

## AISLAMIENTO DE UN PROTEUS HYDROPHILUS DE UN BOVINO (1)

por JESUS M. ALVAREZ V.

Médico Veterinario

### INTRODUCCION

El 19 de septiembre del año en curso en curso se enviaron al Instituto de Investigación Patológica del Ministerio, donde hacía prácticas bacteriológicas, unas vísceras de una novilla con el fin de investigar gérmenes patógenos secundarios a una bronceopneumonía a frigore. Escogí en especial el pulmón para hacer los trabajos necesarios, y aislé, casi puro, un germen que de acuerdo a la clasificación que trae Bergey (2), ha resultado ser un *Proteus hydrophilus*. Este hallazgo tiene, a mi modesto entender, grande importancia práctica, ya que hasta la fecha no se sabía que esta especie fuera patógena para animales de campo, y por ende no se incluía en los productos biológicos con fines terapéuticos.

### DATOS SOMEROS SOBRE EL PROTEUS HYDROPHILUS

El *Proteus hydrophilus* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Es un bastoncito Gran-negativo y muy móvil. Ataca la dextrosa produciendo ácido y gas. No ataca la lactosa. Licúa la gelatina, dándole a la zona licuada una forma de nabo. No se conoce dónde habita.

Según Merchant (5), "sólo es patógeno para las ranas, produciéndoles septicemia. También para las salamandras, peces, ratones, curies y conejos. Respecto a la toxina que produce el germen, dice: la toxina precipitada por alcohol produce sobre los músculos efectos similares a los

que causan la cafeína, digitalina y veratrina. Las toxinas solubles en alcohol producen parálisis."

Jordan y Burrows (4), se expresan así: "El agente etiológico de la enfermedad de las ranas denominada *red-leg*, *ulcer-disease* de los peces de arroyo, y *red-sore* del esturión, se ha encontrado que es un bacillus que pertenece al grupo *Proteus* y ha sido clasificado como *Proteus hydrophilus*. La substancia celular de esta bacteria es tóxica en inyección parenteral y como en el caso de las formas estéricas, parece ser un glucolipóide. Ninguna diferencia en toxicidad es aparente entre cepas de origen patógeno y no patógeno."

### DESCRIPCION DE DOS CEPAS

A los veinticinco días de haber aislado el *Proteus hydrophilus*, el doctor Virviescas, director del Instituto de Investigación Patológica, lo aisló puro de un hueso de bovino del que se sospechó había muerto de *peste boba*. Al hacer su clasificación encontré que correspondía al género y especie del que con anterioridad había aislado, aunque con algunas variaciones en cuanto a caracteres culturales en algunos medios.

Cuando hable acerca de la cepa número 1, debe pensarse en la que aislé, y cuando sea de la cepa número 2, en la que aisló el doctor Virviescas.

#### Cepa número 1

Remitente: Doctor Carlos E. Morales.  
Procedencia. Chía (Cundinamarca).

(1) Tesis de grado,

Número con el cual quedó asentada en los libros del Instituto: 1.058.

*Cepa número 2*

Remitente: Doctor Fidel Ochoa.

Procedencia: Antioquia.

Número con el cual quedó asentada en los libros del Instituto: 1.093.

TRABAJO DE LAS DOS CEPAS

*Clasificación de la cepa número 1*

Morfología y coloración. Bacilos, cuyos elementos más grandes tienen 2 micras de largo por 0,83 de ancho y los más pequeños miden 0,83 micras de largo por 0,7 de ancho. Frecuentemente bipolares. Generalmente aislados, raras cadenas cortas. Muy móviles. Gram-negativos.

Destrosa: (+).

Lactosa: —.

Gelatina: Licuefacción napiforme.

Sucrosa: (+).

Mannitol: (+).

Colonias en agar: Medianas, grisáceas, levantadas, húmedas, brillantes, lisas, bordes ondulados. De las dos semanas en adelante comienzan a tomar coloración carmelito-claro, especialmente cuando se incuban a la temperatura de 12° C.

Agar inclinado: Barniz grisáceo, poco levantado, granuloso, brillante.

Agar sangre-perro, conejo y ovino: Produce hemólisis de intensidad Alfa. Con el tiempo las colonias toman coloración carmelito-oscuro.

Caldo: Turbidez uniforme, veta gruesa.

Leche tornasolada: Acidez, coagulación no homogénea, reducción, peptonización lenta, iniciándose generalmente a los tres o cuatro días y terminando a los siete.

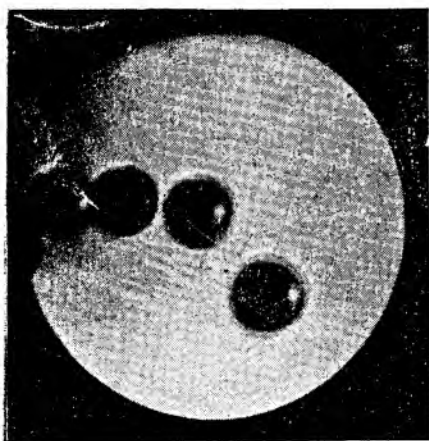
Agar papa inclinado: Barniz grisáceo, levantado, brillante, liso.

Indol: +.

Nitritos de nitratos: +.

Aerobio, facultativo.

Temperatura óptima, 37° C.



*Colonias en agar a las 24 horas. Luz incidente. x 8.*

*Diagnóstico diferencial*

Siguiendo la clasificación de Bergey (2), hemos caído en la letra B, de la llave de las especies del género *Proteus*. Esa letra trae dos especies: 3. *Proteus hydrophilus*, 4. *Proteus ichthyosmus*.

Para diferenciar estas dos especies me he basado en la acción del germen en los medios que a continuación especifico:

Gelatina: Licuefacción napiforme.

Leche tornasolada: Acido; coagula; peptoniza.

*Clasificación de la cepa número 2*

Esta cepa concuerda en todo con la cepa número 1; excepto en las siguientes peculiaridades:

En agar inclinado: Barniz grisáceo, levantado, nacarado, liso.

En leche tornasolada: Peptoniza totalmente a las 48 horas.

*Patogenicidad de las dos cepas*

Para comprobar la patogenicidad de las dos cepas anteriormente descritas,

inoculé 53 animales, divididos en las siguientes especies: 20 conejos, 13 cobayos, 2 palomas, 14 ranas, 2 perros y 2 bovinos. Estos animales fueron inyectados por vía endovenosa, subcutánea, intraperitoneal e intracerebral; las dosis variaron según la vía, el peso del animal y la especie inoculada. El inoculum consistió en cultivo total del germen en caldo ordinario, cultivo que varió en edad de incubación en la estufa; el segundo material usado fue el obtenido por filtración de cultivo en caldo ordinario de 24 horas, a través de bujía Berkefeld, tipo N, material que sufrió las pruebas de esterilidad en aerobiosis y anaerobiosis, previamente a su inoculación.

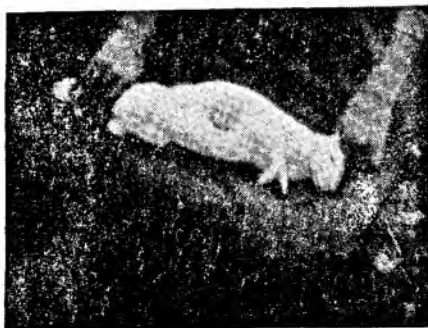
Las técnicas de inoculación fueron las usadas comúnmente en laboratorio; para la intracerebral usé la descrita por Almanza Reyes (1). A los animales que murieron como consecuencia de la inoculación se les hizo necropsia detallada y cultivos en aerobiosis y anaerobiosis para recuperar el germen en los inoculados con cultivos, y en los de filtrado para excluir el *Proteus* como causa de la muerte; en el conejo número 51, inoculado subcutáneamente con filtrado de 63 días, pude aislar el *Proteus hydrophilus* del sitio de inoculación. Este aislamiento es tanto más sorprendente cuanto los controles culturales del filtrado fueron negativos, sabiendo la facilidad con la cual este germen se cultiva en medios ordinarios; este hecho puede tener explicación, para aclarar lo cual es necesaria una posterior investigación.

Los animales inoculados presentaron los primeros síntomas en períodos bastante cortos que fluctuaban entre 1 y 24 horas después de la inoculación.

Los síntomas se marcaron inicialmente por un cambio de la temperatura del cuerpo manifestada por una caída de ésta hasta de un grado, principalmente en los inoculados con filtrado, o una alza de 1 grado centígrado. Había un decaimiento general notándose al animal temeroso, que

rehuía el alimento, y fuerte taquicardia.

Después se manifestaban los síntomas pulmonares marcados por una polisnea y secreción nasal; finalmente se presentaban los síntomas entéricos caracterizados por diarrea, a veces sanguinolenta. El curso de estos síntomas fue de 24 horas. De todos los animales inoculados 35 murieron; los que sobrevivieron se restablecieron completamente en 4 días.



*Inoculación subcutánea con cultivo.  
Necrosis en el punto inoculado.*

A los animales muertos se les hizo necropsia comprobándose las siguientes lesiones principales: en el pulmón: enfisema y edema, gran congestión y a veces focos pneumónicos; en el intestino: fuerte enteritis, especialmente del delgado y del recto, contenido mucoso, a veces



*Intraveno a extravasada con cultivo. Nótese necrosis completa de la oreja.*

amarillento, otras blancuzco; en el corazón: fuerte endocarditis y líquido pericárdico. Algunas veces se pudo observar congestión del peritoneo, especialmente en los curies, de los órganos genitales, del

hígado, de los riñones y adrenales. El bazo generalmente normal.

En el siguiente cuadro se encuentran los datos de inoculación para los conejos, cobayos y palomas.

| Nº | Especie | Mat. | Edad  | Vía   | Cant.   | P. i. | Curso | Síntomas |   |   | Lesiones |   |   |   |
|----|---------|------|-------|-------|---------|-------|-------|----------|---|---|----------|---|---|---|
|    |         |      |       |       |         |       |       | T        | G | P | E        | P | E | C |
| 1  | Conejo  | C    | 18 h. | V.    | 1.5 cc. | —     | 48 h. | —        | — | + | +        | + | + | + |
| 2  | "       | "    | 23 "  | "     | 1.0 "   | —     | 30 "  | —        | — | — | —        | + | + | + |
| 3  | "       | "    | 2½ "  | "     | 3.0 "   | —     | 18 h. | —        | — | + | +        | + | + | + |
| 4  | "       | "    | "     | "     | "       | —     | "     | —        | — | + | +        | + | + | + |
| 5  | "       | "    | 2½ "  | "     | 2.5 "   | 11 h. | "     | +        | + | + | —        | + | + | + |
| 6  | "       | "    | "     | "     | "       | 3 "   | 16 "  | +        | + | + | —        | + | + | — |
| 7  | "       | "    | "     | "     | "       | 1 "   | 18 "  | +        | + | + | +        | — | — | — |
| 8  | "       | "    | 20 "  | "     | 1.0 "   | "     | 20 "  | +        | + | + | +        | + | + | + |
| 9  | "       | "    | "     | "     | 1.25 "  | "     | "     | +        | + | + | +        | — | — | — |
| 10 | "       | F    | 43 d. | S.    | 1.0 "   | 24 "  | 6 d.  | —        | — | — | —        | + | + | + |
| 11 | "       | "    | "     | "     | "       | —     | 18 "  | —        | — | — | —        | + | + | + |
| 12 | Cobayo  | C    | 18 h. | I. P. | "       | —     | —     | —        | — | — | —        | — | — | — |
| 13 | "       | F    | 43 d. | S.    | "       | —     | —     | —        | — | — | —        | — | — | — |
| 14 | "       | "    | "     | I. C. | "       | —     | —     | —        | — | — | —        | — | — | — |
| 15 | "       | "    | 24 "  | "     | 0.1 "   | 3 h.  | 6 h.  | +        | + | + | —        | + | + | + |
| 16 | "       | "    | "     | "     | "       | 1 "   | "     | +        | + | + | —        | + | + | + |
| 17 | "       | "    | "     | "     | "       | "     | 5½ "  | +        | + | + | +        | + | + | + |
| 18 | "       | "    | 3 "   | "     | "       | "     | 18 "  | +        | + | — | —        | + | + | + |
| 19 | "       | "    | 50 "  | "     | "       | 15 m. | 24 "  | +        | + | — | —        | + | + | + |
| 20 | "       | "    | "     | "     | "       | 10 "  | 6 "   | +        | + | — | —        | + | + | + |
| 21 | "       | M    | 24 h. | "     | "       | —     | 13 d. | —        | — | — | —        | + | + | + |
| 22 | "       | "    | "     | "     | "       | —     | —     | —        | — | — | —        | — | — | — |
| 23 | Paloma  | C    | 20 "  | V.    | 0.5 "   | 15 h. | —     | —        | — | — | —        | — | — | — |
| 24 | "       | "    | "     | "     | "       | 1 "   | —     | —        | — | — | —        | — | — | — |
| 25 | Conejo  | C    | 28 "  | "     | 3.0 "   | —     | 18 h. | —        | — | — | —        | + | + | + |
| 26 | "       | "    | "     | "     | "       | —     | "     | —        | — | — | —        | + | + | + |
| 27 | "       | "    | 2½ "  | "     | 2.5 "   | 1 h.  | 5 "   | —        | + | + | +        | + | + | + |
| 28 | "       | "    | 7½ "  | "     | 1.5 "   | 2½ "  | 24 "  | —        | — | — | —        | + | + | + |
| 29 | "       | "    | "     | "     | 1.0 "   | 55 m. | 18 "  | —        | — | — | —        | + | + | + |
| 30 | "       | "    | 20 "  | S.    | "       | 24 h. | 8 d.  | —        | — | — | —        | + | + | — |
| 31 | "       | "    | "     | "     | "       | "     | —     | —        | — | — | —        | — | — | — |
| 32 | "       | "    | "     | "     | "       | "     | 14 d. | —        | — | — | —        | — | — | — |
| 33 | Cobayo  | F    | 24 "  | I. C. | 0.1 "   | 6 "   | 24 h. | —        | + | — | —        | + | + | + |
| 34 | "       | "    | "     | "     | "       | 10 m. | "     | +        | + | + | —        | + | + | + |

P. i. = período de incubación.

Lesiones {C = cardíacas.

I. C. = intracerebral.

C. = cultivo cepa número uno.

F. = filtrado cepa uno.

V. = endovenosa.

M. = macerado visceras de conejo.

S. = subcutánea.

I. P. = intraperitoneal.

Síntomas { T = temperatura.  
G = generales.  
P = pulmonares.  
E = entéricos.

Inoculé 14 ranas con las dos cepas. Fueron inoculadas por las siguientes vías:

intraperitoneal, intramuscular e intracerebral. Las dosis variaron de acuerdo a

la vía utilizada. El inoculum fue el mismo que se usó para los anteriores animales de laboratorio. Algunas las observé en la estufa a 37° C. después de inoculadas, con el fin de disminuir su resistencia, y junto con testigos; éstos no manifestaron síntoma alguno durante el tiempo de observación. Otras las observé a la temperatura ambiente, que aquí en Bogotá es de 14° C. por término medio.

En la necropsia de los animales que murieron (6), se presentó como predominante la siguiente lesión: fuerte enteritis. En una se presentó además edema de la membrana interdigital y congestión de los músculos de las patas.

La siembra de sangre de corazón y del edema digital dio cultivo puro.

En el cuadro siguiente se pueden ver los datos de inoculación.

### inoculación.

| Nº | Mac | Edad    | Con-t.   | Vía | Inoculación | Curso | Tiempo de observación | Lesiones entericas |
|----|-----|---------|----------|-----|-------------|-------|-----------------------|--------------------|
| 1  | C   | 1 98 h. | 0.05 cc. | I.  | P. Ambiente | —     | 12 d.                 | —                  |
| 2  | "   | "       | "        | "   | "           | —     | "                     | —                  |
| 3  | "   | "       | "        | "   | Estufa      | 24 h. | —                     | +                  |
| 4  | "   | "       | "        | "   | "           | "     | —                     | +                  |
| 5  | F   | 1 24 "  | 0.05 "   | I.  | C. Ambiente | —     | 12 d.                 | —                  |
| 6  | "   | "       | 0.1 "    | "   | "           | —     | 12 "                  | —                  |
| 7  | "   | "       | "        | "   | "           | —     | 12 "                  | —                  |
| 8  | C   | 2 18 "  | 0.5 "    | I.  | P. Estufa   | 24 h. | —                     | +                  |
| 9  | "   | " 48 "  | "        | "   | "           | "     | —                     | +                  |
| 10 | "   | "       | "        | "   | "           | "     | —                     | +                  |
| 11 | "   | "       | "        | "   | Ambiente    | "     | —                     | +                  |
| 12 | "   | "       | "        | "   | "           | —     | 12 d.                 | —                  |
| 13 | F   | 2 24 "  | 0.1 "    | I.  | M.          | —     | 17 "                  | —                  |
| 14 | "   | "       | "        | "   | C.          | —     | "                     | —                  |

h = del animal.

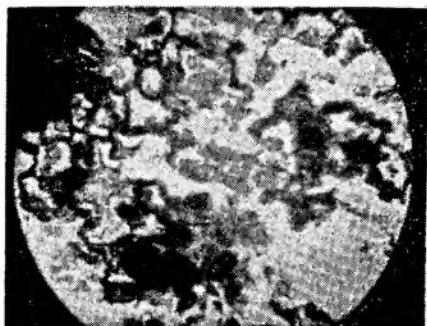
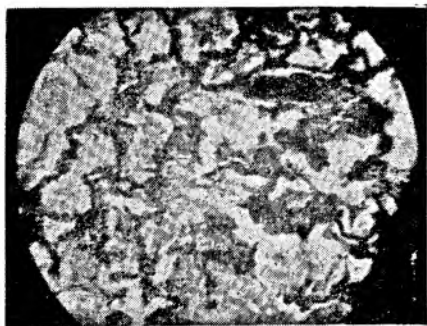
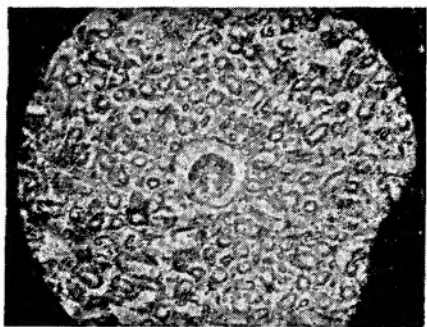
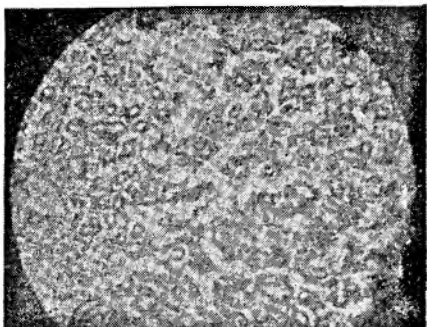
F = filtrado cepa uno. I. C. = intracerebral.

C = cultivo cepa número uno. I. P. = intraperitoneal. I. M. = intramuscular.

Inoculé dos perros, uno con 4 c. c. endovenosamente de un cultivo que tenía 24 horas. A la hora de inoculado tenía temblores musculares y defecó una materia amarilla y pastosa, presentó hipotermia. Al observarlo tres y media horas después de inoculado, noté que había vomitado una substancia mucóide. Luego lo observé por espacio de mes y medio y no presentó nada en particular. El segundo perro fue inyectado con 8 c. c. de filtrado por vía endovenosa, y a la media hora estaba deprimido, vomitó por dos veces abundante substancia mucóide, y defecó materia amarilla y pastosa. Lo observé por espacio de un mes y cinco días sin que pre-

sentara nada que llamara la atención.

Injecté dos bovinos: el uno de 70 kilogramos de peso, por vía endovenosa, con una dosis masiva de 7 c. c. de cultivo total de 22 horas. El cuadro clínico que presentó el animal fue el siguiente: a las dos horas de inoculado se notó decaído, con quejidos, conjuntivas congestionadas, secreción nasal mucosa, ptialismo, hipotermia, polisnea, tos y defecación frecuente de una materia pastosa, flúida, de color normal y sin olor. Murió entre las tres horas de inoculado, presentando una fuerte hemorragia por la boca y timpanización. La autopsia reveló tejido subcutáneo arborizado, especialmente el de

*Microfotografía número 1**Microfotografía número 2**Microfotografía número 3**Microfotografía número 4*

*Ternero con inflamación nodular (área blanca por arteificio) a las 4½ horas de inoculado.*

la región del pecho, serosas abdominales con zonas de equimosis; intestino delgado un poco hemorrágico; cuajar hemorrá-

gico; librillo y panza con la mucosa fácilmente despegable; hígado congestionado; riñones hemorrágicos, preferentemente el del lado opuesto al que estaba echado el animal; testículos hemorrágicos; hidrotórax; pulmones congestionados; corazón con petequias, miocarditis y endocarditis; tráquea con gran cantidad de mucus y hemorrágica. En la siembra de los órganos siguientes se comprobó el germen: corazón, pulmón, riñón, vesícula biliar y cerebro.

Los estudios histopatológicos de algunas vísceras hechos por el doctor Jorge E. Albornoz, director de la Sección de Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria, son los siguientes:

Pulmón: hemorragia y edema pulmonar. (Microfotografías números 1 y 2.)

Intestino delgado: necrosis de la mucosa intestinal.

Riñón: necrosis de los tubos, glomerulonefritis productiva y hemorrágica, comienzo inflamación conjuntivo. (Microfotografías números 3 y 4.)

El otro ternero tenía 73 kilogramos de peso, se inoculó por vía subcutánea con 3 c. c. de un cultivo de 48 horas. Se pudo observar en el sitio de la inoculación la formación de una inflamación nodular del tamaño de un huevo de gallina, dura, caliente y dolorosa en el término de cuatro horas y media. El ternero estaba un poco decaído, tenía hipertermia y polisnea. La inflamación a los dos días se hizo difusa y abarcaba un área de unos veinte centímetros. Ya al tercer día había desaparecido el alza de temperatura y el animal comía normalmente. Se ha observado por espacio de un mes y cinco días; la inflamación, prácticamente, ha desaparecido.



*Ternero con inflamación difusa a los dos días de inoculado.*

## COMPROBACION DEL FENOMENO DE SHAWARTMAN.—DISCUSION DE LA INOCULACION DEL PRIMER TERNERO Y EFECTOS HISTAMINICOS

### *Fenómeno de Shwartman*

Con el fin de investigar si el microbio actuaba por toxina hice la prueba para observar el fenómeno de Shwartman, según Hagan (3): “El procedimiento es inyectar pequeñas dosis de filtrado intradérmicamente a un conejo y entre 12 y 24 horas después inocular grandes dosis del mismo material por vía endovenosa. En una gran proporción de los animales, la segunda inyección es seguida por la formación de una lesión hemorrágica en el sitio de la inoculación intradérmica después de una o dos horas de la endovenosa. Usualmente ocurre necrosis del área y se forma una úlcera.

“La naturaleza de esta reacción no es conocida, pero evidentemente depende del material tóxico en el filtrado. La reacción no se efectuará con filtrado de todos los organismos, no puede ser inducida con proteínas u otras sustancias de origen no bacterial.”

Inyecté intradérmicamente a un conejo 0,1 c. c. de un filtrado de cultivo que tenía 48 horas. A las 24 horas después inoculé endovenosamente 2 c. c. del mismo filtrado. A la hora se notó hipotermia, y pasadas las tres horas hubo congestión en el sitio de la inoculación intradérmica y el animal murió en un estado de excitación nerviosa, con polisnea, taquicardia y diarrea. En la autopsia se encontró arborización de las serosas abdominales, intestino delgado muy congestionado y el grueso con bastante mucus; hígado congestionado; órganos genitales congestionados y pulmones con petequias.

### *Inoculación del primer ternero*

Al primer ternero que inoculé le puse la dosis masiva de 7 c. c. de cultivo total

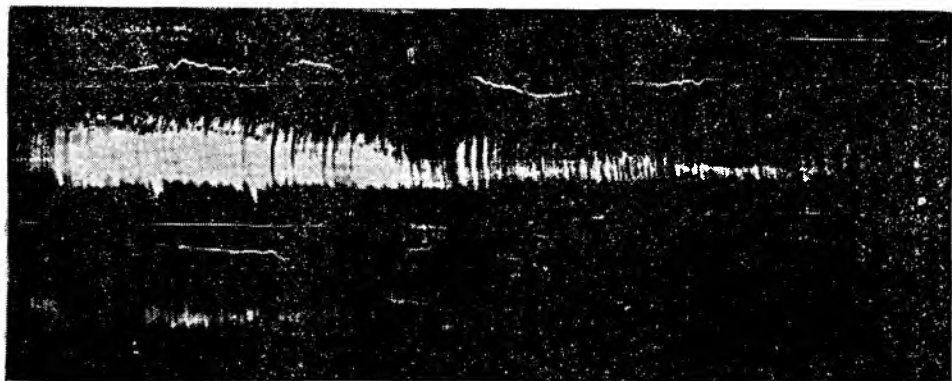
por vía endovenosa por dos razones: primera, porque no se conocía si en realidad ese germen era patógeno para bovinos, ya que en la literatura bacteriológica no he encontrado nada al respecto; segunda, porque al hacer inoculaciones endovenosas en perros con dosis masivas de cultivo total y de filtrado no pude desarrollar sino estados patológicos pasajeros.

*Efectos histamínicos de la inoculación al primer ternero*

Pensamos a primera intención en un shock histamínico, pero los estudios farmacodinámicos que se han hecho con el filtrado demuestran que la acción tóxica no es de origen histamínico. Veamos la interpretación que le da el doctor K. Mezey, director del Departamento de Investigaciones Experimentales de los Laboratorios Cup de Bogotá, a la quimiográfica

que tuvo a bien hacerme y que anexo a este trabajo: "Dosis pequeñas (2 c. c.) producen una baja inicial de la presión sanguínea, que después de dieciocho segundos alcanza un valor más alto que antes de la inyección. Dosis más elevadas producen en principio los mismos efectos, pero de mayor intensidad. La infusión seguida de 70 c. c. de filtrado a razón de 2 c. c. por minuto ha causado: primero, una alza continua de la presión sanguínea, y segundo, sólo después de haber entrado más de la mitad de la dosis empezó a presentarse ligera disminución.

"Con el fin de demostrar que el efecto observado del filtrado no tiene semejanza alguna con el así llamado shock histamínico, en el mismo animal se inyectó una vigésima de miligramo de clorhidrato de histamina, y el efecto se puede ver en la gráfica adjunta."



*Quimiográfica.*

## CONCLUSIONES

1ª Se han aislado 3 cepas *Proteus hydrophilus*, Bergey, de procedencia bovina

2ª Dos de estas cepas se han mostrado patógenas para conejos, cobayos, palomas y ranas.

3ª Una de estas cepas se ha mostrado con un índice de patogenicidad para bo-

vinos jóvenes. La actividad histamínica del germen ha sido descartada.

4ª Una de estas cepas ha demostrado poseer una exotoxina.

NOTA.—De nuevo fue aislado el germen puro de un hueso de bovino que se envió al Instituto de Investigación Patológica para investigar *carbón bacteriano* o *septicemia hemorrágica*. Está asentado en los libros del Instituto con el



número 1.137. Esta cepa es idéntica a la número 2.

#### TESTIMONIO DE AGRADECIMIENTO

Por este medio expreso mi agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra manera me han prestado su colaboración para llevar a cabo este trabajo. Al doctor Velásquez Q., Decano de la Facultad de Medicina Veterinaria; a mi profesor de bacteriología, doctor Hernando Almanza R.; al doctor Francisco Virviescas, director del Instituto de Investigación Patológica; al doctor Jorge E. Albornoz, Director de la Sección de Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria; al doctor K. Mezey, Director del Departamento de Investigaciones Experimentales de los Laboratorios Cup

de Bogotá; al doctor José J. Bohórquez, Jefe de la Sección de Diagnóstico del Instituto Patológico, y al doctor Juan A. Villamil, Subdirector de la Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Almanza Reyes II.—*Diagnóstico de la cepa EVF como virus de la estomatitis vesiculosa*. Rev. Med. Vet. 91, 56, 78, 1946. Bogotá.
2. Bergey, D. H. *Manual of Determinative Bacteriology*. 5ª edición.
3. Hagan, W. A. *The infectious diseases of Domestic Animals*. 1945.
4. Jordan, E. O., y Burrows, W. *Textbook of Bacteriology*. 14ª edición.
5. Merchant, I. A. *Veterinary Bacteriology*, 1942.