

STREPTOCOCCUS ZOOEPIDEMICUS VAR. RODENTIIUM

NUEVA VARIEDAD PATÓGENA NATURAL PARA CAVIA COBAYA

POR LOS DOCTORES

JOSÉ JULIO MONTEVERDE * Y DOMINGO HÉCTOR SIMEONE **

Varios investigadores: (2), (4), (6), (7), (11), (12), (13), (14), (15), (16), (17), (19), (20), (22), (23), (24), han señalado en cuadros patológicos del *Cavia cobaya* la intervención de bacterias pertenecientes al género *Streptococcus*. Con anterioridad a la presente publicación (9) dimos a conocer algunos detalles de un estreptococo con características bioquímicas-fisiológicas-patogénicas, poco comunes. En dicha oportunidad no creímos adecuado efectuar una designación específica de este microorganismo y el principal objetivo fué describir la aparición en Argentina de una infección estreptocócica septicémica espontánea del *Cavia cobaya* debida a estreptococos dotados de gran virulencia. En otra comunicación (10) ampliamos la información bacteriológica sobre estos microorganismos, los cuales resultaron pertenecer al Grupo "C" de Lancefield. También efectuamos consideraciones de orden taxonómico y si bien señalamos varias características en común con la especie *Streptococcus zooepidemicus*, anotamos algunas diferencias. En lo referente a la clave de determinación adoptada¹ propusimos una modificación a la misma, basados principalmente en el comportamiento frente a la sorbita. Cultivos de estos microorganismos fueron remitidos para su estudio serológico al Statens Seruminstitut de Copenhague² en donde confirmaron que pertenecían al Grupo "C" de Lancefield, no comprobando reacciones precipitantes con los grupos serológicos A y B y además llamando la atención por su comportamiento en los medios con sangre

* Profesor Titular de Microbiología en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires y Jefe de Sección Microbiología en el Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Bs. As.

** Profesor adjunto de Microbiología en la Fac. de Agr. y Vet., Buenos Aires.

1 BREED, R. S., MURRAY, E. G. D. y HITCHENS, A. P.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Sixth Ed. Williams and Wilkins Co. (1948).

2 Instituto Nacional de Investigaciones de las Ciencias Naturales. Departamento de Botánica. Exp. 754/50, 16/VIII/950.

que permitió expresar que se consideraba una "cepa muy interesante de estreptococo y completamente atípica que no produce hemólisis en la placa de agar sangre y cuyas colonias son muy parecidas al Tipo III de neumococo".

Aproximadamente un año después de la aparición de la primera enzootia, actuamos en otra mortandad de cobayos; de animales recientemente muertos y en distintos órganos, aislamos bacterias del género *Streptococcus*, que a pesar de su marcada virulencia natural y experimental, no poseían poder hemolítico *in vitro*. Uno de nosotros realizó posterior y separadamente el estudio de esta nueva enzootia (18) y la estimó debida a *Streptococcus zooepidemicus*, aclarando que el microorganismo aislado no poseía poder hemolítico y presentaba inconstante poder de ataque a la sorbita.

Un año después volvimos a comprobar otra mortandad debida a estreptococos que tenían características similares a las de los hallados en las situaciones precedentes, a lo que finalmente debemos agregar que un colega extranjero ¹ durante el año 1952 aisló bacterias de la sangre del corazón de cobayos recientemente muertos, aparentemente en cultivo puro, las que para su determinación bacteriológica, nos hizo llegar en la forma de cuatro cultivos que resultaron estar formados por estreptococos idénticos a los anteriormente citados.

En cumplimiento de lo ya anticipado, en otra publicación (10) presentamos ahora en forma conjunta nuestros estudios referentes a la bacteriología de estos microorganismos, agregando información acerca de las perjudiciales enzootias por ellos causadas.

ESTUDIOS EFECTUADOS

Epizootiología: La primera enzootia fué registrada en noviembre de 1949; se comprobaron animales enfermos en un pequeño criadero de cobayos de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires². El criadero constaba de tres secciones que albergaban en total aproximadamente 120 animales. Los animales enfermos fueron observados en una de ellas, que tenía, en el momento de iniciarse la enzootia, 40 animales, de los cuales enfermaron y murieron 20. La enfermedad atacó a machos, hembras y crías; entre las hembras gestantes se produjeron abortos. La alimentación era a base de alfalfa verde.

La inspección del criadero permitió comprobar la existencia de buena cama, ventilación escasa, ambiente con olor amoniacal y poca penetración de rayos solares.

Segunda enzootia: Comenzaron los primeros casos en octubre de 1950, llegando a su punto culminante en noviembre del mismo año. Se presentó en un criadero ubicado en la provincia de Buenos Aires, que constaba de tres galpones de material, con 12 secciones cada uno. Cada sección albergaba 30 animales, lo que permitió calcular el total de éstos en aproximadamente 1.200. En los tres galpones notamos animales enfermos en distintas secciones, los que podían calcularse aproximadamente en 10-15 % del efectivo total. En algunas secciones los enfermos alcanzaban al

¹ Dr. H. Petermann.

² Dres. A. S. Cámpori y H. Camberos.

40 % del total en ellas incluidos. Todos los enfermos morían y con marcada preferencia enfermaban crías y hembras en gestación. Como única alimentación los animales recibían alfalfa verde en abundancia, aunque en general se negaban a comerla, por lo que se sospechó que la alimentación no les era agradable. Las condiciones higiénicas de los locales y el tratamiento diario de los mismos las consideramos aceptables.

Tercera enzootia: Los primeros enfermos fueron notados en setiembre de 1951, en el mismo criadero citado en la primera enzootia, el cual ahora albergaba 40 animales entre machos, hembras y crías. Enfermaron y murieron todos los animales. Las alimentación era a base de alfalfa.

Cuarta enzootia: Se produjo en un laboratorio dedicado al estudio de la fiebre aftosa, ubicado en la provincia de Buenos Aires. Estos animales se utilizaban para la inoculación de virus aftoso y eran recibidos de otro criadero en número de 100 a 120 unidades cada vez. Antes de ser utilizados se mantenían en una sección de cuarentena durante 15 días, separándolos luego y repartiéndolos en cajas conteniendo 10 animales cada una. Se trataba de machos adultos, de un peso que oscilaba entre 350-400 gramos. Por excepción se encontraban hembras en dichos lotes. Los animales enfermos aparecieron después de haber sido inoculados con virus aftoso y fueron sacrificados al aparecer los primeros síntomas. Del total de animales enfermaron 30.

DESCRIPCIÓN DE LOS SÍNTOMAS

Tomando en conjunto las observaciones efectuadas en las enzootias ya citadas, referimos los síntomas de la enfermedad como sigue: Decaimiento general, con frecuencia arrojamiento seroso por las aberturas naturales. Las hembras con preñez avanzada solían abortar. Junto con la pérdida de vivacidad y tendencia a aislarse, los enfermos presentaban pelos erizados; ojos entornados, a veces con secreciones de tipo catarral. Más tarde marchaban con dificultad; a medida que progresaba el cuadro algunos caían en decúbito lateral, efectuando esfuerzos para volver a la posición normal; en este período morían algunos animales. En otros casos el curso se prolongaba, apareciendo parestias del tren posterior, luego opistótomos y movimientos en "pedaleo" del tren anterior, que finalmente interesaba a los cuatro miembros. Había marcada agitación disneica, seguida de muerte. Con respecto a la sensibilidad, especialmente de los casos con trastornos de la motilidad, ésta no se hallaba abolida, sino por el contrario, había hiperestesia. En algunos casos solía observarse un rápido enflaquecimiento de los enfermos.

En general, el curso de la enfermedad era sobreagudo o agudo.

DESCRIPCIÓN DE LAS LESIONES ANATOMOPATOLÓGICAS

1) Lesiones anatomopatológicas macroscópicas:

Piel y tegumentos: En general normales; algunos animales presentaban pelos aglutinados en correspondencia con los orificios nasales, oculares y aberturas genitales.

Ganglios superficiales: En la mayoría de los casos, los ganglios axilares, inguinales y cervicales: aparentemente normales; en pocos casos observamos ganglios aumentados de tamaño y hemorrágicos.

Cavidad abdominal: En casi todos los animales sometidos a necropsia, observamos en la cavidad abdominal la presencia de exudados, aunque el volumen y aspecto de los mismos fué variable. En algunos casos la colecta líquida fué abundante (10-15 ml), de aspecto lechoso y consistencia fluida; en otros casos el exudado fué menos voluminoso pero de consistencia filante y tanto los órganos como la serosa

peritoneal, aparecieron cubiertos por una película amarillenta de consistencia gelatinosa. Los vasos sanguíneos del mesenterio y epiplón se hallaban pletóricos.

Intestinos: Con regularidad se presentaban congestivos y con hemorragias difusas.

Bazo: Esplenomegalia; observamos en algunos casos zonas de color amarillento y lesiones nodulares.

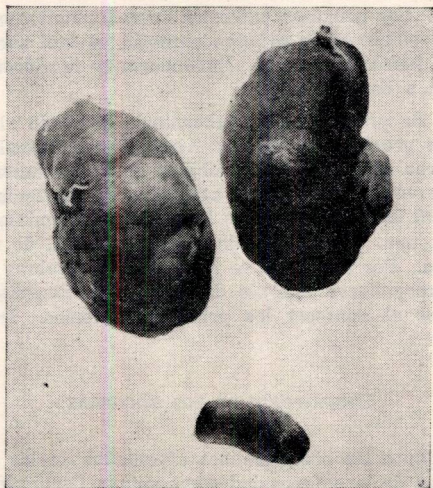


Foto N° 1

Hígado: En la mayoría de los casos estaba aparentemente normal en cuanto a tamaño, forma y color; en otras oportunidades notamos hipertrofia y adherencias fibrinosas en la cara anterior, en correspondencia con el diafragma.

Riñones: Por lo general normales; raramente estos órganos estaban aumentados de tamaño o presentando zonas decoloradas y abscesos que hacían saliencia en la superficie. (Foto N° 1).

Cápsulas suprarrenales: Aumentadas de tamaño, amarillentas y con algunas Petequias. (Foto N° 1).

Cavidad torácica: En todos los casos colecta líquida en el *saco pericárdico*, variable en volumen, con aspecto límpido y color pajizo. En la mayoría de los casos discreta hipertrofia cardíaca; en pocas oportunidades Petequias en el miocardio.

En los pulmones no fué la regla observar zonas hemorrágicas o focos neumónicos.

Resumiendo: Comprobamos en la necropsia, con carácter bastante constante, colectas líquidas en las cavidades peritoneal y pericárdica y congestión de la masa intestinal.

2) Lesiones histopatológicas:

Éstas corresponden a las ya descriptas en un trabajo previo (9) cuyas características sobresalientes son: en hígado, numerosos microabscesos de distribución irregular, constituidos por infiltrado linfocitario de un núcleo caseoso en el que se reconocen restos nucleares. En riñones: infiltrado linfocitario y organización fibroplástica de una nefritis intersticial de tipo crónico, con bloqueo de tubos renales y alteración de la topografía. En las glándulas suprarrenales: vacuolización marcada en células de la zona arquata. En el bazo: focos con centros necrosados acidófilos que alternan con zonas de folículos malpighianos normales. En la periferia de estas lesiones, proliferación de macrófagos del S.R.E. de los senos de Billroth. En los

pulmones: neumonía en hepatización roja, congestión e infiltrado linfocitario peribronquial; ectasia en bronquiolos. En el corazón: infiltración difusa del miocardio, sin alteración de las fibras.

Etiología:

La sospecha de estar en presencia de una enfermedad infectocontagiosa se afianzó con el examen directo de los preparados microscópicos realizados a partir de animales recientemente muertos o sacrificados en estado agónico.

1) *Observaciones al estado vivo:*

En los exudados comprobamos, juntamente con abundantes piocitos, presencia de cuerpos cocoides, agrupados en cadenas cortas desprovistos de movilidad. (Fotos Nos. 2 y 3).

2) *Observación de preparados fijados y coloreados:*

En materiales procedentes de órganos y exudados, observamos cadenas de cocos, diplococos y cocos aislados y agrupaciones de pocos elementos cocoides; Gram positivos, con afinidad cromática hacia los colorantes básicos y no ácido-resistentes. (Foto N° 4).

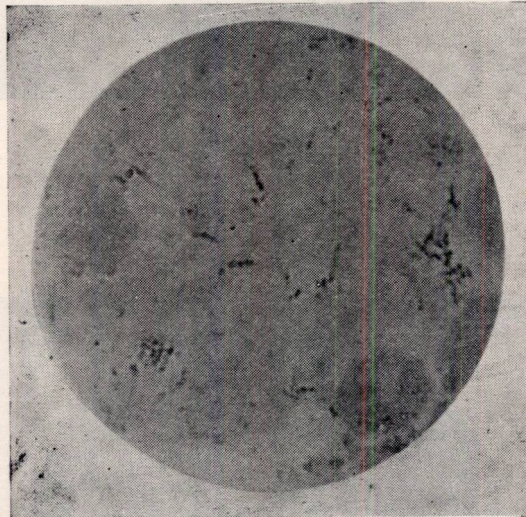


Foto N° 2

3) *Cultivos:*

A partir de sangre recogida en el corazón, ganglios linfáticos, exudados peritoneal y pericárdico, hígado, bazo, pulmón, cápsula suprarrenal, médula ósea y cerebro, los cultivos efectuados en medios destinados a revelar la presencia de bacterias, nos permitió poner en evidencia, en los medios correspondientes, únicamente a un representante del género *Streptococcus* cuya morfología podía relacionarse con las observaciones de los preparados directos.

El estudio de cultivos de estos microorganismos, aislados en pureza, constituye el objeto fundamental del presente estudio.

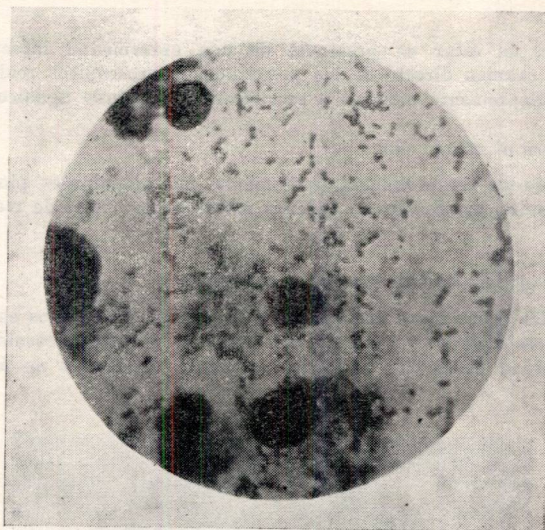


Foto N° 3

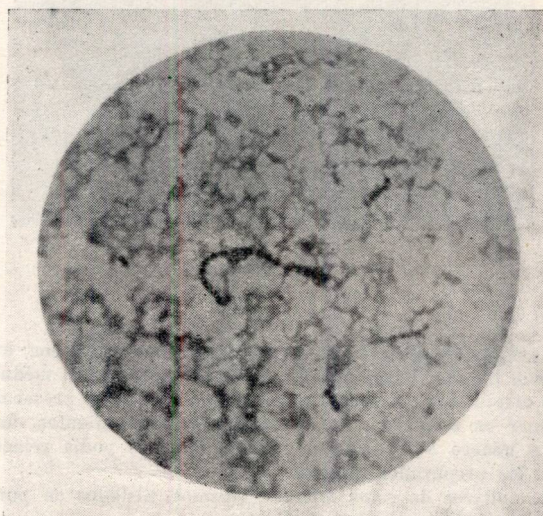


Foto N° 4

4) Filtrados:

Con el propósito de descartar la intervención de agentes filtrables, preparamos triturados a partir de distintos órganos de animales recientemente muertos, los cuales, previamente diluidos y centrifugados, fueron sometidos a filtración. En forma similar fueron tratados los exudados. Las pruebas de filtración las cumplimos con filtros Seitz EK y Boerner. Los controles de esterilidad los efectuamos en medios aeroanaerobios. Los filtrados que demostraron estar estériles en el control de siembra, fueron ensayados por diversas rutas de inoculación (intracerebral, intraperitoneal y subcutánea) en roedores de laboratorio. Los resultados obtenidos fueron negativos, ya que no pudimos reproducir la enfermedad, ni modificar la aparente normalidad de cobayos, ratones y conejos inoculados.

ESTUDIO BACTERIOLÓGICO DEL AGENTE CAUSAL

1) *Morfología*: Células esféricas de 0,6 a 1 micra de diámetro. En los exudados se disponen en cortas cadenas, por lo general de 4-6 elementos; también se encuentran diplococos y gérmenes aislados (Fotos Nos. 2 y 3). En los cultivos la morfología varía poco, presentándose diplococos pero de preferencia formando cadenas largas en los medios líquidos (caldo, suero y leche). Inmóviles. No esporulados. Gram positivos. No ácido-resistentes. Fácilmente coloreables con los colorantes básicos de anilina. En los preparados húmedos a la tinta china y observando cultivos en caldo-suero de 3-5 horas de incubación a 37° C, comprobamos halo refringente (cápsula) aunque las coloraciones de cápsulas comunes no permiten demostrar su presencia.

2) Aspecto de los cultivos:

a) Medios líquidos:

Caldo extracto de carne (5 días a 37° C): No desarrolla.

Caldo infusión carne de ternera (5 días a 37° C): No desarrolla.

Agua peptonada (5 días a 37° C): No desarrolla.

Caldo infusión carne de caballo (24 horas de incubación a 37° C): Desarrollo vigoroso, enturbiamiento uniforme y escaso sedimento; después de 5 días de incubación a 37° C el enturbiamiento se hace más intenso, habiendo considerable aumento del sedimento que se desintegra por agitación, quedando el medio turbio y con pequeños grumos en suspensión.

Caldo infusión carne de ternera con 10 % suero normal de caballo (24 horas a 37° C): Desarrollo semejante al anterior, después de 5 días de incubación a 37° C; hay anillo parcial adherido a las paredes del tubo, pequeños grumos en suspensión y abundante sedimento floconoso. No se observa velo superficial.

Caldo Tarozzi (24 horas a 37° C): Desarrollo abundante, enturbiamiento y depósito; después de 5 días de incubación a 37° C el medio se aclara en la parte superior y se observa abundante depósito. Los trozos de hígado permanecen sin cambio aparente.

b) Medios sólidos:

Agar carne de ternera (5 días a 37° C): Sin desarrollo.

Agar carne de caballo (24 horas a 37° C): Se presentan los cultivos bajo dos aspectos: las cepas recientemente aisladas forman una pátina mucóide, brillante y bastante vigorosa. (Foto N° 5).

Agar carne de ternera-suero: Desarrollo similar al anterior.

Agar sangre de caballo (24 horas a 37° C): Desarrollan formando colonias de tipo mucóide. No se observa beta hemólisis. Después de 48 y 72 horas a 37° C, las colonias alcanzan un diámetro de 2 mm, el centro es blanquecino y sobreelevado.

Luego de este período de incubación, dejando las placas a temperatura ambiente, se forma en el borde una zona más transparente y menos elevada, quedando una parte de la colonia sobreelevada. *Agar sangre humana*: En las mismas condiciones, las características no varían. *Agar sangre ovina*: Desarrollo semejante, sin hemólisis. *Agar sangre de conejo*: Desarrollo similar, sin hemólisis.

Gelatina: Las siembras efectuadas por punción muestran escaso desarrollo a lo largo de la misma; no hay desarrollo en la superficie. No hay licuación.

Papa: Escasa germinación (10 días a 37° C).

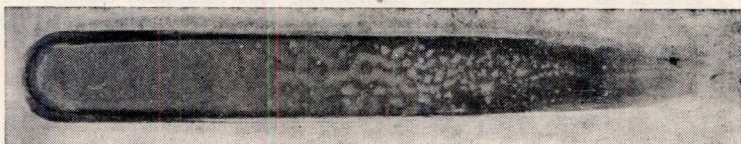


Foto N° 5

c) *Variación en los cultivos*: En los primoaislamientos sobre agar sangre y agar carne de caballo, fué posible observar el neto predominio de formas mucoides (M). Los repetidos subcultivos demostraron que el carácter "M" podía perderse transitoriamente obteniéndose entonces cultivos de formas "matt". Esta variación en la morfología de las colonias no perturbaba la alta virulencia, ni las propiedades bioquímicas-fisiológicas. La observación de numerosos cultivos permitió comprobar, simultáneamente, la presencia en varios de ellos, de ambos tipos de colonias y aún el tránsito total de cultivos, que originalmente producían solamente colonias mucosas, hacia la forma "matt". Esta variación fué reversible ya que cultivos procedentes de colonias "matt", originalmente mucosos, recuperaron el carácter mucoso aun después de permanecer desecados y al vacío durante varios meses. No todos los cultivos en estas condiciones recuperaron el carácter mucoso.

3) *Reacciones bioquímicas y fisiológicas*:

Reacciones de fermentación: Ataca regularmente con producción de ácido solamente: glucosa, lactosa, salicina, levulosa, dextrina, sacarosa, galactosa y maltosa. No ataca: dulcita, inulina, trehalosa, glicerina, xilosa, rafinosa, adonita, inosita, manita y arabinosa. Es atacada raramente, en forma inconstante, débil y tardíamente: sorbita.

Hidrólisis del hipurato de sodio: Negativa.

Hidrólisis de la esculina: Positiva.

Indol: No se produce.

Producción de amoníaco (72 horas a 37° C): produce amoníaco a partir de peptona.

Tolerancia al azul de metileno al 0,1 %: No tolera.

Reducción de azul de metileno: Positiva.

Reducción de nitratos a nitritos: Negativa.

pH final en caldo glucosado: Límites obtenidos, de 4,4 a 5,4.

Coagulación de la leche: Habitualmente coagulación, salvo raras excepciones.

Tolerancia a distintas concentraciones de cloruro de sodio: Desarrolla en medios con 2 %; no lo hace a concentraciones superiores.

Temperatura límite de desarrollo: No desarrolla a 10° C ni a 45° C.

Resistencia al calor: No resisten 60° C durante 30 minutos.

Desarrollo a pH 9,6: No desarrollan.

Resistencia a la bilis: Ninguno de los cultivos desarrolla en medios adicionados con 10; 20; 30 ó 40 % de bilis de bovino.

Acción sobre la sangre: Los cultivos se mostraron indiferentes en los medios adicionados de sangre. Utilizando medios líquidos no se pudo demostrar la producción de hemolisinas.

Producción de fibrinolisin: Los cultivos en estudio no lisan la fibrina del plasma de sangre humana normal.

Producción de hialuronidasa: Negativa.

Fermentación de la sorbita: Dado que algunos cultivos presentaron acidificación tardía y débil de sorbita, en cambio la mayoría se mantuvo negativo, se investigó sobre cultivos positivos y negativos, si este carácter era constante. La repetida selección de colonias fué la base fundamental de esta investigación y se procedió de la siguiente manera:

Cultivos sorbita positivos: Se estimuló el desarrollo de los cultivos en estudio en caldo carne de caballo, empleando cultivos de 24 horas a 37° C, los cuales fueron sembrados en agua de peptona con: suero, sorbita al 1 % e indicador de pH. Después de 4 pasajes seriados, en este mismo medio con intervalos de 5 días entre uno y otro, efectuamos aislamientos sobre agar suero, y 10 colonias obtenidas después de 24 horas de incubación a 37° C en este medio eran separadamente sembradas en agua peptona-suero, incubando a 37° C hasta aparición de turbiedad, situación que se producía generalmente alrededor de las 10 horas. Esta parte la consideramos importante debido a que algunas reacciones de fermentación en este grupo de estreptococos es mejor observarla sobre cultivos jóvenes en fase logarítmica. A partir de cada uno de estos cultivos, sembramos otros tantos conteniendo agua peptona-suero-sorbita-indicador. Lecturas parciales cada 24 horas de incubación a 37° C fueron cumplidas durante 10 días. El plan original era seleccionar aquellos cultivos capaces de producir ácido o que dieran reacción negativa, para a su vez repetir nuevamente el proceso de aislamiento en superficie, con nueva selección de colonias y posteriormente de cultivos, sobre la base de la actividad sobre la sorbita. En esta forma intentamos repetidas selecciones. Los resultados obtenidos los dividimos en dos épocas; una de ellas se refiere al empleo de cultivos relativamente frescos o de pocos pasajes en los medios artificiales, y la segunda época, corresponde al empleo de los mismos cultivos, pero que habían sido mantenidos desecados al vacío y a baja temperatura durante alrededor de 8 meses.

Primera época: Los escasos cultivos originariamente sorbita débilmente positivos, produjeron ya en la primera generación y en forma predominante cultivos sorbita negativos; los escasos cultivos sorbita positivos (acidificación muy lenta y débil) obtenidos en esta forma, en nuevas selecciones mostraron tendencia a hacerse negativos y por lo tanto, un cultivo originalmente sorbita positivo podía perder este carácter. Los cultivos sorbita negativos permanecieron, en las selecciones efectuadas, sin variar.

Segunda época: Los cultivos que originariamente fueron considerados sorbita positivos, habían perdido la capacidad de atacar sorbita ya a partir de la primera generación, a excepción de uno de ellos que se comportó como lo hacía en la primera época. Posteriormente repetimos las pruebas con este cultivo, que fué el único cultivo de la selección de 10 colonias que había aparecido acidificando débilmente, y en la repetición del experimento pudimos apreciar que todos los cultivos obtenidos eran negativos frente a la sorbita. Los cultivos sorbita negativos demostraron ser persistentemente negativos en la selección.

4) Pruebas serológicas:

Los cultivos estudiados dieron reacción positiva frente al suero C. (Clasificación de Lancefield) siguiendo la técnica clásica.

5) Infección experimental:

Cobayos: Utilizamos las siguientes vías de inoculación: intraperitoneal, subcutánea, intracerebral, oral, nasal y ocular. Como material para las inoculaciones empleamos cultivos en caldo suero de 24 horas de incubación a 37° C; las dosis variaron desde 1 ml. hasta 0,25 ml. para las dos primeras rutas y desde 0,025 ml. hasta 0,1 ml. para la ruta intracerebral. Para las pruebas vía oral utilizamos sonda de goma. La inoculación por la ruta nasal y ocular la efectuamos por instilación. En todos los casos el éxito letal fué la regla. Las muertes se produjeron entre 24 horas y 6 días. Los síntomas en la infección experimental fueron semejantes a los descritos en la infección natural, en los casos de evolución más lenta, pudimos observar manifestaciones nerviosas. En los casos de infección por la vía ocular, observamos lagrimeo, blefaritis, conjuntivitis que en algunos casos producía la oclusión palpebral. Apreciamos adenopatía de los ganglios cervicales y retrofaringeos. La inoculación nasal produjo arrojamamiento nasal de tipo seroso y obturación de las fosas nasales, provocadora de más intensa disnea. Las lesiones no se apartaron de las descritas en la infección natural. Insistimos que en los casos de inoculación por vía subcutánea, observamos presencia de edema gelatinoso en correspondencia con el punto de inoculación y ganglio linfático satélite, hemorrágico e hipertrófico. Los derrames en las cavidades abdominal y pericárdica estuvieron, en lo que a su volumen respecta, en relación directa con el tiempo de duración de la enfermedad. En todos los casos efectuamos retrocultivos con éxito.

Ratón: Utilizamos las siguientes rutas de inoculación: intraperitoneal, subcutánea, oral, ocular y nasal. Utilizamos como material de inoculación: cultivos en caldo suero de 24 horas de incubación a 37° C.

Síntomas: Menos marcados que en el cobayo; podemos resumirlos así: erizamiento de pelos; decaimiento; discretas manifestaciones nerviosas; en algunas oportunidades pudimos observar movimiento de pedaleo en los cuatro miembros.

Necropsia: Colecta líquida en la cavidad abdominal, habitualmente de aspecto lechoso. Generalmente esplenomegalía. No siempre fué posible determinar la existencia de exudado pericárdico.

Conejo: Sintomatología poco marcada debido a que el éxito letal fué rápido (entre 24 y 48 horas). Decaimiento general, pelos erizados y disnea. No observamos síntomas nerviosos.

Necropsia: En cavidad abdominal y torácica, colecta sero-hemorrágica abundante.

Caballo: Por ruta subcutánea no demostró poder patogénico.

CONSIDERACIONES

El presente estudio es esencialmente bacteriológico; sin embargo, por tratarse en él de bacterias patógenas naturales para el *Cavia cobaya* que han originado ya varios focos activos de infecciones con serias pérdidas de animales, nos parece adecuado insistir en algunos aspectos que se relacionan con el padecimiento por ellas producido.

Entendemos que la comprobación de varias enzootias debidas al mismo microorganismo, registradas en sitios alejados entre sí deja de ser una curiosidad para constituirse en un problema de patología digno de ser atendido. Los datos epizootológicos son demostrativos que la incidencia de la infección en los distintos focos registrados, es por orden cronológico y aproximadamente: 50 %, 15 %, 100 %, 30 % y que la

mortalidad alcanza la cifra máxima, habiendo fracasado los intentos curativos basados en el uso diario de 20.000 U. O. de penicilina con retardantes.

Las medidas profilácticas basadas en la separación y destrucción de todos los enfermos, la permanente vigilancia de los animales aislados como sanos, la higiene de los locales, el cambio repetido de camas, unido al uso abundante de soluciones antisépticas corrientes y muy especialmente el suministro de alimentación adecuada, resultan por el momento las mejores recomendaciones para luchar contra este mal. Con respecto a la alimentación, estimamos de interés referir que en uno de los focos se observó que los animales a pesar de tener buena disponibilidad de alfalfa, buscaban ávidamente las briznas de pasto que se hallaban juntamente con este vegetal. El agregado de cortes de alfalfa de otra calidad fué rápidamente ingerida por estos cobayos lo que indicó que a pesar de disponer de alimento, éste era rechazado y esto seguramente contribuyó a disminuir las defensas. Corroboración esta observación el hecho de que las hembras en gestación y crías eran los sujetos predilectos a la septicemia estreptocócica que tratamos.

No es menos ilustrativo el ejemplo de cobayos aparentemente sanos, que después de ser inoculados con material conteniendo virus aftoso presentaron septicemia estreptocócica, lo que nos hace pensar en defensas orgánicas debilitadas por la inoculación experimental, que favorece la aparición de la infección espontánea que nos ocupa.

Podemos también agregar que en una oportunidad efectuamos la autovacunación del stock de animales en uno de los focos estudiados. Poco después de aplicada la vacuna las muertes se detuvieron, pero como paralelamente se habían dispuesto y cumplido las medidas profilácticas generales señaladas anteriormente, nos inclinamos a suponer que estas últimas jugaron la parte decisiva.

El origen de estas infecciones no ha sido aún precisado; ignoramos si el agente causal es un huésped habitual del *Cavia cobaya* o si procede de otras especies animales que suelen estar en contacto directo o indirecto con los cobayos. El contagio, una vez instalado un foco, es grande y considerando que el microbio causal es eliminado por materias fecales, orina, secreciones oculares, nasales y genitales, no es aventurado suponer que éstas son las fuentes principales que determinan la propagación, con aparición de nuevos casos.

La septicemia estreptocócica a que hacemos referencia no debe ser confundida con otro tipo de infección estreptocócica del cobayo, conocida en nuestro medio, la cual es de evolución crónica, con características de benignidad y habitualmente focalizada a los ganglios cervicales (adenitis cervical); esta infección es debida a un microorganismo cuya virulencia, comparada con la del que aquí tratamos, es limitada y sus

características fisiológicas y bioquímicas distintas del que motiva este estudio.

Con respecto a los síntomas de los animales atacados resulta difícil, apelando solamente a ellos, llegar a un diagnóstico correcto. Los datos de la necropsia son más orientadores, ya que la presencia de abundante colecta líquida de aspecto lechoso en la cavidad peritoneal, congestión intestinal, esplenomegalia y colecta líquida en saco pericárdico, permiten sospechar el mal. El diagnóstico bacterioscópico de los exudados patológicos permite apreciar en los extendidos, con y sin coloración, la presencia de cadenas de cocos que se tiñen por el Gram. La obtención de cultivos mucoides en los medios sólidos adicionados de suero o de sangre, resultó de frecuente hallazgo en los primocultivos en donde pudieron demostrarse los estreptococos que nos ocupan, en pureza y abundancia en todos los materiales investigados, especialmente en el exudado peritoneal.

La comprobación de lesiones similares a las descriptas y las observaciones bacterioscópicas de estreptococos en el exudado peritoneal aportan una fuerte presunción a favor de este tipo de infección, aunque se impone la clasificación bacteriológica, dado que podría tratarse de otros microbios vecinos.

Los comentarios acerca del estudio bacteriológico de los microorganismos que producen la infección, los hacemos recaer en aquellos caracteres que nos permiten fundamentar las apreciaciones de orden taxonómico que nos guían a clasificar estos microbios como nueva variedad. Ateniéndonos a la morfología, hemos planteado el interrogante de si realmente estos microorganismos poseen cápsulas demostrables por los procedimientos corrientes de coloración; nosotros por este proceder no hemos podido evidenciarlas (10); sin embargo, si nos atenemos a los preparados húmedos a la tinta china (3), expresamos que, como ocurre con *Streptococcus equi* y *Streptococcus zooepidemicus*, es factible comprobar netos halos claros alrededor de estos microbios cuando proceden de cultivos de pocas horas de incubación a 37° C, a diferencia de otros estreptococos, entre ellos *Streptococcus equisimilis* que en estas condiciones son negativos.

El comportamiento frente a sorbita, sustancia que posee en el actualidad valor en la clasificación de los estreptococos del grupo "C" de Lancefield, revela que en los medios con esta sustancia se produjo acidificación muy débil en un número escaso de cultivos, aproximadamente 5 % y siempre en cultivos de reciente aislamiento; esta capacidad fermentativa fué perdida en sucesivos subcultivos en medios artificiales, persistiendo este carácter en forma constante.

La investigación del poder hemolítico dió motivo a que intensificáramos nuestros estudios al respecto, empleando para tal fin sangre de

distintas especies animales (5), (1), efectuando variaciones en las técnicas, considerando la intervención que podría tener el oxígeno libre y la presencia de distintos tipos de lisinas. Los resultados fueron siempre negativos y este hecho merece ser especialmente destacado para estos estreptococos poseedores de gran virulencia para roedores, tal como lo hemos podido comprobar no solamente después de numerosos subcultivos, sino aun con cultivos desecados al vacío y mantenidos en la nevera durante aproximadamente 6 meses. Desconocemos que se hayan citado cultivos con estas características y el hecho de hallarlos en distintos focos y épocas, aleja la posibilidad de que se trate de un fenómeno aislado, constituyéndose en un dato de valor taxonómico.

No hemos podido poner en evidencia, hasta ahora, sustancias que presenten las características de la hialurodinasa; en este aspecto convendría realizar nuevas pruebas antes de emitir opinión definitiva y por lo tanto nuestros resultados en este sentido deben tomarse como provisionales.

Por lo que se refiere al poder patógeno experimental es preciso destacar la virulencia acentuada de estos estreptococos para los roedores de laboratorio, situación que tratamos más adelante. No disponemos de referencias acerca de que en otras partes se hayan señalado estreptococos con las características del que nos ocupa y que sean capaces de infectar al hombre.

El conjunto de estos atributos destacables, comprobados en los estreptococos que nos ocupan, nos permiten efectuar consideraciones taxonómicas que resumimos seguidamente:

Nuestra tendencia, ya expresada en comunicaciones anteriores (9-10-18) ha sido la de evitar complicar esta parte con nuevas designaciones y así nos hemos esforzado en buscar ubicación dentro de la clave que adoptamos, con la exactitud que corresponde, sin conseguirlo. No hemos tenido inconvenientes en incluirlos en la clase: *Schizomycetes*; Orden *Eubacteriales*; Suborden *Eubacteriineae*; Familia *Lactobacteriaceae*; Género *Streptococcus*. Tropezamos con dificultades en la clasificación específica. Dentro del género *Streptococcus*, se incluyen estos microorganismos en el "Grupo Piogénico", en el cual se consideran cinco especies: *Str. pyogenes*, *Str. zooepidemicus*, *Str. equi*, *Str. equisimilis* y *Str. agalactiae*. Los microbios en estudio podrían ser considerados como *Str. zooepidemicus*, tal como lo hemos expuesto anteriormente (9), (18), pero al discutir ahora con más elementos de juicio algunas de sus características bioquímicas, fisiológicas y patológicas, que no coinciden con la especie aludida, entendemos poder justificar la propuesta de nueva variedad. En este orden de ideas, tenemos que la acidificación de la sorbita se ha considerado negativa o raramente positiva débil e inconstante para fines taxonómicos y este comportamiento

de los estreptococos del "Grupo C" de Lancefield permite anotar una primera e importante diferencia con *Streptococcus zooepidemicus*, que fermenta siempre dicha sustancia.

La segunda diferencia importante con *Str. zooepidemicus* reside en que a diferencia de éste, que es regularmente beta hemolítico, los que aquí tratamos son incapaces de producir cambios en los medios sólidos y líquidos adicionados con sangre. Este comportamiento fué confirmado en el Instituto Seroterápico de Copenhague. En estudios efectuados en el país nunca se ha podido poner en evidencia en *Str. zooepidemicus* cultivos incapaces de atacar sangre *in vitro*, los cuales siempre produjeron fácil y rápidamente, netas zonas de beta hemólisis, como también hemolisinas filtrables.

A la falta de hemólisis *in vitro* y a la no fermentación de la sorbita, podemos agregar la tercera diferencia de importancia, y es la referente al poder patógeno. Como infección natural del *Cavia cobaya* no hemos hallado en la literatura trabajos donde se expongan el tipo de las lesiones macro y microscópicas halladas, ni tampoco microorganismos con las características conjuntas de los que nos ocupan. Las lesiones de linfadenitis asignadas por algunos investigadores (4-15) a *Str. zooepidemicus* en el cobayo, no las hemos comprobado y la presentación de sintomatología nerviosa no sabemos que haya sido señalada anteriormente. En la infección experimental hemos demostrado el poder patógeno agudamente fatal para lauchas, cobayos y conejos, por instilación nasal y ocular, vía oral, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, endovenosa e intracerebral; repetidos subcultivos demostraron que esta aptitud patógena no se pierde fácilmente y debe hacerse notar que *Str. zooepidemicus*, si bien puede ser experimentalmente patógeno para rata, laucha y conejo, lo es mucho menos para el cobayo y aun cultivos patógenos para laucha y conejo no lo son para este roedor. Si bien estas diferencias en el poder patógeno pueden asimilarse a variación gradual, no por ello dejan de tener significado.

Atentos a lo expuesto y teniendo presente que hemos asimilado anteriormente estos estreptococos a *Str. zooepidemicus* (10-18) recomendando la necesidad de modificar la clave de determinación adoptada y manteniendo nuestro afán de respetar las recomendaciones contenidas en el Código Internacional de Nomenclatura Bacteriológica, hemos tratado de evitar el agregado de nuevos nombres, pero es evidente que los estreptococos que estamos tratando tienen características propias que los alejan de la especie *Str. zooepidemicus*.

Si dentro del "Grupo C" de Lancefield analizamos argumentos que guían, en la clave adoptada, para sostener, *Str. equisimilis* como especie diferente de *Str. equi*, podemos incluso discutir acerca de si los estreptococos estudiados constituyen o no una especie nueva. En

una comunicación anterior (9) expusimos los motivos que teníamos para no considerar esta situación y seguimos sosteniendo ese criterio; sin embargo, una nueva jerarquía sistemática es necesaria ya que estos microbios pueden ser distinguidos claramente de *Str. zooepidemicus* y de los restantes integrantes del Grupo Piogénico.

No estimamos necesario argumentar *in extenso* agregando ejemplos en donde organismos con propiedades diferenciales de la jerarquía de los que aquí tratamos, se han propuesto, en casos parecidos, como especies o variedades nuevas por microbiólogos competentes; insistimos en que las diferencias halladas resultan suficientes como para aceptar una nueva variedad de *Str. zooepidemicus*, para la que proponemos la designación: *Str. zooepidemicus* var. *rodentium*.

Por lo que se refiere a la clave adoptada aparecida en el Bergey's Manual, tenemos la siguiente transcripción:

“A. Grupo piogénico: No desarrollan a 10° C. No desarrollan a 45° C. Generalmente beta hemolíticos. Generalmente no coagulan leche tornasolada y si reducen lo hacen lentamente. Generalmente no fermentan manita ni glicerina. No toleran 0,1 % de azul de metileno, 6,5 % de Cloruro de sodio y pH 9,6. Producen amoníaco de peptona.

1) Hipurato de sodio no hidrolizado.

a) Lactosa fermentada.

b) Sorbita no fermentada pero trehalosa fermentada. Grupo A de Lancefield.

1. *Streptococcus pyogenes*.

bb) Sorbita fermentada y trehalosa no fermentada. Grupo C de Lancefield.

2. *Streptococcus zooepidemicus*.

aa) Lactosa puede o no ser fermentada. Grupo C de Lancefield.

b) Trehalosa no fermentada.

3. *Streptococcus equi*.

bb) Trehalosa fermentada.

4. *Streptococcus equisimilis*.

2) Hipurato de sodio hidrolizado. Grupo B de Lancefield.

5. *Streptococcus agalactiae*”.

Proponemos el siguiente cambio en la misma:

bb) Sorbita fermentada y trehalosa no fermentada. Grupo C de Lancefield.

2. *Streptococcus zooepidemicus*.

bbb) Sorbita y trehalosa no fermentada.

2ª *Str. zooepidemicus* var. *rodentium*.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Refieren los autores su intervención en cuatro enzootias naturalmente aparecidas sobre *Cavia cobaya*, en la República Argentina, debidas a la actividad patogénica de un integrante del género *Streptococcus*. La incidencia de la infección resultó aproximadamente y por orden cronológico de aparición de los focos: 50%, 15 %, 100 % y 30 %; las cifras de mortalidad sobre los atacados fué de 100 %.

Las medidas profilácticas recomendadas fueron: destrucción de los animales muertos y enfermos, separación de los sospechosos, vigilancia permanente de las sanos, desinfección e higiene de los locales con cambios repetidos de camas y buena alimentación.

El tratamiento de algunos enfermos con penicilina no dió buenos resultados.

Guiándose por la sintomatología resulta difícil llegar a un diagnóstico correcto; los datos de la necropsia son más orientadores, destacándose la presencia de colecta consistente, de aspecto lechoso, en la cavidad peritoneal, colecta líquida en saco pericárdico, congestión intestinal y esplenomegalia. La observación bacterioscópica de los exudados patológicos permitió revelar la presencia de estreptococos.

La clasificación de los microbios presentes asegura el diagnóstico etiológico.

La reproducción experimental de la enfermedad, empleando los estreptococos aislados de las lesiones presentes en los casos patológicos, se consiguió fácilmente por distintas vías, en conejos, cobayos y ratones; en cambio, cuando se emplearon filtrados libres de bacterias obtenidos de la trituración de órganos afectados, procedentes de animales agónicos o recientemente muertos de la infección natural, los resultados de las inoculaciones experimentales fueron persistentemente negativos.

El estudio bacteriológico ha permitido a los autores relacionar a los microbios causales con la especie *Streptococcus zooepidemicus* con la que comparten varias características. Sin embargo el análisis de orientación taxonómica revela algunas importantes diferencias de comportamiento con respecto a la especie citada, entre las que se destacan; a) ausencia de hemólisis beta en los medios adicionados con sangre, b) ataque a la sorbita generalmente ausente y cuando presente débil, inconstante y con tendencia a desaparecer definitivamente y c) características marcadamente agresoras en las pruebas de poder patógeno experimental para ratones, cobayos y conejos.

Los autores sostienen que disponen de suficientes elementos de juicio como para, por lo menos, señalar una nueva variedad patógena que puede distinguirse claramente de todas las especies del Grupo *piogénico*

y para la que proponen la designación: *Streptococcus zooepidemicus* var. *rodentium*. Dado que han seguido la clave aparecida en el Bergey's Manual, estiman que se impone un cambio en la ordenación de la citada clave a fin de dar cabida a la nueva variedad descripta y en este sentido proponen el siguiente cambio en el grupo correspondiente:

A. *Grupo piogénico*. No desarrollan a 10° C. No desarrollan a 45° C. Generalmente beta hemolíticos. Generalmente no coagulan leche tornasolada y si reducen lo hacen lentamente. Generalmente no fermentan manita ni glicerina. No toleran 0,1 % de azul de metileno, 6,5 % de cloruro de sodio y pH 9,6. Producen amoníaco de peptona.

1. Hipurato de sodio no hidrolizado.

a. Lactosa fermentada.

b. Sorbita no fermentada pero trehalosa fermentada. Grupo A de Lancefield.

1. *Streptococcus pyogenes*.

bb. Sorbita fermentada y trehalosa no fermentada. Grupo C de Lancefield.

2. *Streptococcus zooepidemicus*.

bbb. Sorbita y trehalosa no fermentada.

2ª *Str. zooepidemicus* var. *rodentium*.

aa. Lactosa puede o no ser fermentada. Grupo C de Lancefield.

b. Trehalosa no fermentada.

3. *Streptococcus equi*.

bb. Trehalosa fermentada.

4. *Streptococcus equisimilis*.

2. Hipurato de sodio hidrolizado. Grupo B de Lancefield.

5. *Streptococcus agalactiae*.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

The AA describe 4 outbreaks due to a member of the *Streptococcus* genus in four different *Cavia cobaya* groups; the incidence of the infection was 50, 15, 100 and 30 % respectively and the mortality rate 100 % for each one.

The profilactic measures indicated were: destruction of both dead and sick animals; isolation of suspected cases; thorough vigilance of the healthy stock; permanent disinfection; repetead change of the hay

used as bedding and proper diets; some sick animals were treated with penicillin without results.

The symptomatology was of no assistance but the post mortem examination can be of help; in this respect it can be said that the following findings were made: milky purulent collection in the peritoneal cavity; liquid collection in the pericardic sac; intestinal congestion and splenomegaly.

Bacterioscopy of the pathologic collections revealed the presence of streptococcus and later on its classification ensured the etiologic diagnostic.

The experimental reproduction in rabbits, guinea-pigs and mice was achieved without difficulty with the streptococcus isolated from the collections; however the inoculation of the test animals with filtrates from organs of both sick or agonic animals was regularly negative.

The bacteriological studies permit to relate the etiologic agent found with *Streptococcus zooepidemicus* with which they share several characteristics; however the taxonomical analyses reveal the following distinctions: a) absence of beta hemolysis; b) sorbite not attacked and when attacked weak, inconstant and with a definite tendency to fade out and c) definite aggressive power in the pathogenic tests in rabbits, guinea-pigs and mice.

The Authors deem reasonable in account of the evidence at hand, to conclude that is a new pathogen variety easily distinguished from all the others of the Pyogenic Group, variety for which they propose the name of *Streptococcus zooepidemicus*, var. *rodentium*.

They also estimate that a modification in the Bergey's Manual is indicated so as to include this new member in the following manner:

A. *Pyogenic group*. No growth at 10° C. No growth at 45° C. Generally beta haemolytic. Generally do not curdle litmus milk and reduce litmus slowly if at all. Mannitol and glycerol generally not fermented. No tolerant of 0,1 per cent methylene blue, 6,5 per cent NaCl and pH 9,6. Produce ammonia from peptone.

1. Sodium hippurate not hydrolysed.

a. Lactose fermented.

b. Sorbitol not fermented but trehalose fermented. Lancefield Group A.

1. *Streptococcus pyogenes*.

bb. Sorbitol fermented and trehalose not fermented. Lancefield Group C.

2. *Streptococcus zooepidemicus*.

bbb. Sorbitol and trehalose not fermented.

2^a *Str. zooepidemicus* var. *rodentium*.

- aa. Lactose may or may not be fermented. Lancefield Group C.
- b. Trehalose not fermented.

3. *Streptococcus equi*.

- bb. Trehalose fermented.

4. *Streptococcus equisimilis*.

- 2. Sodium hippurate hydrolysed. Lancefield Group B.

5. *Streptococcus agalactiae*.

BIBLIOGRAFÍA

1. BECKER, W. C.: *The necessity of a standard blood-agar plate for the determination of hemolysis by streptococci*. Jour. Inf. Dis. XIX. (1916). 754-759.
2. BINAGHI, R.: *Ueber sinen Streptococcus capsulatus*. Centr. Bakt. I. XXII. (1897). 273-279.
3. BUTT, E. M., MOMJGE, C. W. y JOYCE, R. L.: *Demonstration of capsules about haemolytic streptococci with India ink and azoblen*. Jour. Inf. Dis. LVIII (1936). 5-12.
4. CUNNINGHAM, J. S.: *Epizootic lymphadenitis in guinea-pigs due to an encapsulated mucoid haemolytic Streptococcus*. Jour. Inf. Dis. XLV. (1929). 474-484.
5. DANCE, D. A. y MURRAY, T. J.: *A study of haemolytic properties of Streptococci on various blood-agar*. Jour. Inf. Dis. LXIII. (1938). 122-126.
6. FOLEY, G. E.: *Observations on immunity in streptococcal lymphadenitis of the guinea-pigs*. Jour. Imm. XLVIII. (1944). 185-189.
7. HARTWIGK, H.: *Ueber eine Streptokokkeninfection beim Meerschweinchen*. Zentralbl. Bak. I. 1949. CLIV. 8-11. Res. Bull. Inst. Pasteur. IXL. (1951). 478-479.
8. LEGLER, F.: *Ueber einen nicht haemolysierenden Streptokokkenstamm der serologischen Gruppe "C" als Erreger einer Meerschweinchenseuche*. Berl. Münch. Tierarztl. Woch. IX. (1949). 115-119.
9. MONTEVERDE, J. J., SIMEONE, D. H. y LUCAS, G.: *Infección septicémica espontánea del Cavia cobaya debida a un estreptococo mucoso no hemolítico*. V Congreso Internacional de Microbiología. Instituto Oswaldo Cruz. Río de Janeiro. 17-24 de agosto de 1950.
10. MONTEVERDE, J. J. y SIMEONE, D. H.: *Estreptococo no hemolítico del grupo "C" de Lancefield, patógeno natural para Cavia cobaya*. Comunicado Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires. Prensa Médica Arg. XXXVIII. (1951). 1124.
11. NARDI, E.: *Contributo allo studio della setticemia streptococcica delle cavie*. Riv. Med. Vet. e Zoot. II. (1950). 191-202.
12. PARSONS, E. I., y HYDE, R.: *Spontaneous streptococcus infection in guinea-pigs*. Amer. Jour. Hyg. VIII. (1028). 356-385.
13. RUE, M. V.: *Epizootic streptococci myocarditis in guinea-pigs*. Jour. Inf. Dis. LIX. (1936). 236-243.
14. RICHTERS, E.: *Diplococcus lanceolatus Fränkel als Todesursache bei einer Meerschweinchenepizootie mit Geschwürsbildung an den Geschlechtsorganen*. S. F. Infk. Haust. XIV. (1913). 163-165.
15. SEASTONE, C. V.: *Hemolytic streptococcus lymphadenitis in guinea-pigs*. J. Exp. Med. LXX. (1939). 347-378.
16. — *The virulence of group "C" haemolytic streptococci of animal origin*. J. Exp. Med. LXX. (1939). 361-378.

17. SEELEMAN, M. y FLINT, A.: *Die Gruppe "C" der hämolytischen Streptokokken*. Zentralbl. Bakt. I. CXLIX. (1942). 236-250.
18. SIMEONE, D. H.: *Infección espontánea del Cavia cobaya debida a Streptococcus zooeptemicus*. Fac. de Agr. y Vet. Bs. As. (1952). Tesis de profesorado.
19. SMITH, T.: *Spontaneous and induced streptococcus disease in guinea-pigs. Epidemiologic study*. Internat. Clin. Series 41. III. (1931). 276-297.
20. STEFANSKY, W. K.: *Ueber eine durch Streptococcus lanceolatus hervorgerufene Epizootie bei Meerschweinchen*. Centr. Bakt. I. XXX. (1901). 201-208.
21. TODD, E. W.: *The conversion of haemolytic streptococci to nonhemolytic forms*. J. Exp. Med. XLVIII. (1928). 493-498.
22. UTOJO, R. P.: *Streptococcal septicaemia in guinea-pigs*. Hemera Zoa. 62 (1/8): 80-88. (1955) in Biol. Abstr. 30,9 (1956), 2691.
23. WAGNER, V.: *Nichthoemolytische Varianten des Streptokokkus pyogenes*. Schw. Zeitschr. Path. u. Bakt. (1945). VIII. 238-244. Res. Bull. Inst. Pasteur. CLIV. (1946). 436.
24. *The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals*. Edited by Worden A. N. London. Bailliere Tyndall and Cox. 7 and 8, Henrietta street, Covent Garden W. C. 2. (1947).

Los autores agradecen la colaboración prestada por las siguientes personas:

Profesores Dres.: A. Cámpori y H. Camberos y Dres.: H. Petermann, E. Palma, E. G. Charles y F. Viviano por el aporte de informes y animales enfermos.

Dres.: H. Aramburu y B. Epstein por el traslado del resumen y conclusiones al idioma inglés.

Sr. J. Caride, en la parte fotográfica.